remel

RapID™ NH System

INTENDED USE

Remel RapID NH System is a qualitative micromethod employing conventional and chromogenic substrates for the identification of medically important species of *Neisseria*, *Haemophilus*, and other bacteria isolated from human clinical specimens. A complete listing of the organisms addressed by RapID NH System is provided in the RapID NH Differential Chart.

Organisms belonging to the family *Neisseriaceae* are characterized as gram-negative cocci, occurring in pairs or masses, or gram-negative plump rods (often coccobacillary) in pairs or short chains. There are four genera within the family: *Neisseria*, *Moraxella*, *Acinetobacter*, and *Kingella*.[1] The natural habitat of these organisms is mucous membranes and only two species, *N. gonorrhoeae* and *N. meningitidis*, are considered to be primary pathogens.[2] Most other *Neisseriaceae* isolated from human infections have been classified as opportunistic pathogens. Because of this distinction among *Neisseriaceae* relative to human infection, the primary interest of the clinical laboratory has been the identification and confirmation of gonococcal and meningococcal isolates and the differentiation of these species from other *Neisseriaceae*.

RapID NH System has been designed to definitively identify *N. gonorrhoeae*, *N. meningitidis*, and *Moraxella catarrhalis* and to differentiate these organisms from other species of *Neisseria*, *Moraxella*, and *Kingella*.[2-7]

Species of the genus *Haemophilus* are obligate parasites that are associated with the respiratory tract of man and animals. *Haemophilus influenzae* is the etiologic agent of a variety of human infections, including chronic respiratory infection and meningitis. Other species are implicated in venereal disease and conjunctivitis. The differentiation of pathogenic *Haemophilus* from *Haemophilus* species which constitute normal flora is important laboratory information. The RapID NH System will identify and differentiate *Haemophilus* spp., as well as biochemically type *H. influenzae* and *Haemophilus parainfluenzae*.[2,8]

SUMMARY AND EXPLANATION

RapID NH System Panels consist of several reaction cavities molded into the periphery of a plastic disposable tray. Reaction cavities contain dehydrated reactants and the tray allows the simultaneous inoculation of each cavity with a predetermined amount of inoculum. A suspension of the test organism in RapID Inoculation Fluid is used as the inoculum which rehydrates and initiates test reactions. After incubation of the panel, each test cavity is examined for reactivity by noting the development of a color. In some cases, reagents must be added to the test cavities to provide a color change. The resulting pattern of positive and negative test scores is used as the basis for identification of the test isolate by comparison of test results to reactivity patterns stored in an Electronic RapID Compendium (ERIC™) database or by use of the RapID NH Differential Chart.

PRINCIPLE

The tests used in RapID NH System are based upon the microbial degradation of specific substrates detected by various indicator systems. The reactions employed are a combination of conventional tests and single-substrate chromogenic tests, described in Table 1.

REAGENTS*

RapID Inoculation Fluid (R8325102, supplied separately)
(1 ml/Tube)

KCl	6.0 g
$CaCl_2$	0.5 g
Demineralized Water	1000.0 ml

RapID Nitrate A Reagent (R8309003, supplied separately)
(15 ml/Bottle)

Sulfanilic Acid	8.0 g
Glacial Acetic Acid	280.0 ml
Demineralized Water	720.0 ml

RapID Nitrate B Reagent (R8309004, supplied separately)
(15 ml/Bottle)

n,n-Dimethyl-1-naphthylamine	6.0 g
Glacial Acetic Acid	280.0 ml
Demineralized Water	720.0 ml

RapID Spot Indole Reagent (R8309002, supplied separately)
(15 ml/Bottle)

ρ-Dimethylaminocinnamaldehyde	10.0 g
Hydrochloric Acid	100.0 ml
Demineralized Water	900.0 ml

*Adjusted as required to meet performance standards.

Table 1. Principles and Components of the RapID NH System

Cavity #	Test Code	Reactive Ingredient	Quantity	Principle	Bibliography #
Before Reagent Addition:					
1	PRO	Proline ρ-nitroanilide	0.1%	Hydrolysis of the colorless amide substrate by specific enzymes releases yellow ρ-nitrophenol.	1-3, 7-10
2	GGT	γ-Glutamyl ρ-nitroanilide	0.12%		
3	ONPG	σ-Nitrophenyl, β,D-galactoside	0.25%	Hydrolysis of the colorless glycoside substrate releases yellow σ-nitrophenol.	1, 11
4	GLU	Glucose	2.0%	Utilization of the sugar substrate produces acid products which lower the pH and change the indicator.	1, 11
5	SUC	Sucrose	2.0%		
6	EST	Fatty Acid Ester	0.5%	Hydrolysis of the fatty acid ester produces acid products which lower the pH and change the indicator.	1
7	RES	Resazurin	0.1%	Hydrolysis of resazurin to resorufin results in a color change.	8
8	PO_4	ρ-Nitrophenyl phosphate	0.1%	Hydrolysis of the colorless phosphoester releases yellow ρ-nitrophenol.	12
9	ORN	Ornithine	0.8%	Hydrolysis of ornithine produces basic products which raise the pH and change the indicator.	4, 6, 13
10	URE	Urea	0.36%	Hydrolysis of urea produces basic products which raise the pH and change the indicator.	6, 13
After Reagent Addition:					
8	NO_2	Nitrite	1.2%	Reduction of nitrite to nitrogenous products is detected by the absence of the ability to diazotize nitrate reagents.	1, 2, 6
9	NO_3	Nitrate	0.3%	Reduction of nitrate to nitrite is detected by the ability to diazotize nitrate reagents.	6, 13, 14
10	IND	Tryptophane	0.16%	Utilization of tryptophane results in the formation of indole which is detected with RapID Spot Indole Reagent.	6, 13, 14

ENGLISH

PRECAUTIONS
This product is for *In Vitro* diagnostic use and should be used by properly trained individuals. Precautions should be taken against the dangers of microbiological hazards by properly sterilizing specimens, containers, media, and test panels after use. Directions should be read and followed carefully.

Caution!
1. RapID Nitrate A Reagent, RapID Nitrate B Reagent, and RapID Spot Indole Reagent may cause irritation to skin, eyes, and respiratory system.
2. Refer to Material Safety Data Sheet for detailed information on reagent chemicals.

STORAGE
RapID NH System, Spot Indole, and Nitrate A and B Reagents should be stored in their original containers at 2-8°C until used. Allow products to equilibrate to room temperature before use. Remove only the number of panels necessary for testing. Reseal the plastic pouch and promptly return to 2-8°C. Panels must be used the same day they are removed from storage. RapID Inoculation Fluid should be stored in its original container at room temperature (20-25°C) until used.

PRODUCT DETERIORATION
This product should not be used if (1) the color of the reagents has changed, (2) the expiration date has passed, (3) the plastic tray is broken or the lid is compromised, or (4) there are other signs of deterioration.

SPECIMEN COLLECTION, STORAGE, AND TRANSPORT
Specimens should be collected and handled following recommended guidelines.[2,16,17]

MATERIALS SUPPLIED
(1) 20 RapID NH Panels, (2) 20 report forms, (3) 2 chipboard incubation trays, (4) Instructions for Use (IFU).

MATERIALS REQUIRED BUT NOT SUPPLIED
(1) Loop sterilization device, (2) Inoculating loop, swabs, collection containers, (3) Incubators, alternative environmental systems, (4) Supplemental media, (5) Quality control organisms, (6) Gram stain reagents, (7) Microscope slides, (8) Oxidase reagent, (9) Cotton swabs, (10) RapID Inoculation Fluid, 1 ml (R8325102), (11) McFarland #3 turbidity standard (R20413) or equivalent, (12) Pipettes, (13) RapID Spot Indole Reagent (R8309002), (14) RapID Nitrate A Reagent (R8309003), (15) RapID Nitrate B Reagent (R8309004), (16) ERIC (Electronic RapID Compendium, R8323600).

PROCEDURE
There are two alternative procedures for the RapID™ NH System: the 1-hour procedure and the general procedure.

The **1-hour procedure** is only applicable to **suspected gonococci** obtained from **urogenital specimens** isolated on **selective agars**.

The **general procedure** should be used for *Neisseriaceae* from all other body sites and isolated on all other media. *Haemophilus* and other bacteria should be tested using the general procedure.

Inoculum Preparation:
1. Test organisms must be grown in pure culture and examined by Gram stain and oxidase test prior to use in the system.

   Note: The cellular morphology and Gram stain characteristics should be carefully observed since coccobacillary rods may resemble diplococci in smears.
2. Test organisms may be removed from a variety of nonselective and selective agar growth media. The following types of media are recommended:

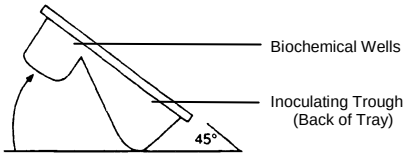
   Nonselective Media: Chocolate Agar; Nutrient Agar; Tryptic Soy Agar with or without 5% Sheep Blood.

   Selective Media: Thayer-Martin Agar; Martin-Lewis Agar; New York City Agar.

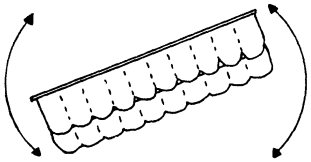
   Notes:
   - When using the 1-hour procedure, only selective agars can be used.
   - Cultures used for inoculum preparation should preferably be 18-24 hours old. Slow-growing isolates may be tested using 48-hour cultures.
   - The use of media other than those recommended may compromise test performance.
3. Using a cotton swab or inoculating loop, suspend sufficient growth from the agar plate culture in RapID Inoculation Fluid (1 ml) to achieve a visual turbidity approximately equal to a #3 McFarland turbidity standard or equivalent.

   Notes:
   - Suspensions significantly less turbid than a #3 McFarland standard will result in aberrant reactions.
   - Bacterial suspensions that are **slightly** more turbid than a #3 McFarland standard will not affect test performance and are recommended for stock cultures, quality control strains, and the 1-hour procedure.
   - Suspensions should be mixed thoroughly and vortexed if required.
   - Suspensions should be used within 15 minutes of preparation.
4. An agar plate may be inoculated for purity and any additional testing that may be required using a loopful of the test suspension from the inoculation fluid tube. Incubate the plate for at least 18-24 hours at 35-37°C.

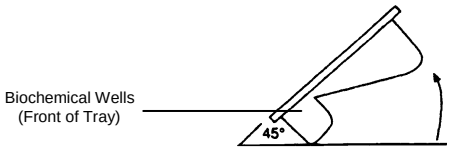
Inoculation of RapID NH Panels:
1. Peel back the lid of the panel over the inoculation port by pulling the tab marked “Peel to Inoculate” up and to the left.
2. Using a pipette, gently transfer the entire contents of the Inoculation Fluid tube into the upper right-hand corner of the panel. Reseal the inoculation port of the panel by pressing the peel-back tab back in place.
3. After adding the test suspension, and while keeping the panel on a level surface, tilt the panel back away from the test cavities at approximately a 45-degree angle (see below).



4. While tilted back, gently rock the panel from side to side to evenly distribute the inoculum along the rear baffles as illustrated below.



5. While maintaining a level, horizontal position (best achieved by using the bench top against the reaction cavity bottoms), slowly tilt the panel forward toward the reaction cavities until the inoculum flows along the baffles into the reaction cavities (see below). This should evacuate all of the inoculum from the rear portion of the panel.



   Note: If the panel is tilted too quickly, air may be trapped at the test cavity junction, restricting fluid movement.
6. Return the panel to a level position. If necessary, gently tap the panel on the bench top to remove any air trapped in the cavities.

   Notes:
   - Examine the test cavities which should appear bubble-free and uniformly filled. Slight irregularities in test cavity fills are acceptable and will not affect test performance. If the panel is grossly misfilled, a new panel should be inoculated and the misfilled panel discarded.
   - Complete the inoculation of each panel receiving inoculation fluid before inoculating additional panels.
   - Do not allow the inoculum to rest in the back portion of the panel for prolonged periods without completing the procedure.

Incubation of RapID NH Panels:
When using the **1-hour procedure**, incubate inoculated panels at 35-37°C in a non-CO_2 incubator for **1 hour**. When using the **general procedure**, incubate inoculated panels at 35-37°C in a non-CO_2 incubator for **4 hours**. For ease of handling, panels may be incubated in the chipboard incubation trays provided with the kit.

ENGLISH

Scoring of RapID NH Panels:
RapID NH panels contain 10 reaction cavities that provide 12 test scores and, if required, a 13th test score (NO_2). Test cavities 8 through 10 are bifunctional, containing two separate tests in the same cavity. Bifunctional tests are first scored before the addition of reagent providing the first test result, and then the same cavity is scored again after the addition of reagent to provide the second test result. Bifunctional test cavities are indicated with the first test above the bar and the second test below the bar. The Nitrite test (cavity 8), which is only required as indicated below in step 5, is designated with a box drawn around the reagent-requiring test.

RapID NH Panel Test Location

Cavity #	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Test Code	PRO	GGT	ONPG	GLU	SUC	EST	RES	PO_4	ORN	URE
								NO_2	NO_3	IND

1. While firmly holding the RapID NH panel on the benchtop, peel off the label lid over the reaction cavities by pulling the lower right hand tab up and to the left.
2. Without the addition of any reagents, read and score cavities 1 (PRO) through 10 (URE) from left to right using the interpretation guide presented in Table 2. Record test scores in the appropriate boxes on the report form using the test code above the bar for bifunctional tests.
3. Add the following reagents to the cavities indicated:
   - Add 2 drops of RapID Nitrate A Reagent to cavity 9 (NO_3).
   - Add 2 drops of RapID Nitrate B Reagent to cavity 9 (NO3).
   - Add 2 drops of RapID Spot Indole Reagent to cavity 10 (IND).

   Note: Only RapID Spot Indole Reagent should be used. Kovacs' or Ehrlich's indole reagent will not provide satisfactory results.
4. Allow at least 1 minute but no more than 5 minutes for color development. Read and score cavities 9 and 10. Record the scores in the appropriate boxes of the report form using the test codes below the bar for bifunctional tests.
5. If the PRO test (cavity 1) is the **only** positive test and the test isolate is a gram-negative coccus (suspect *Neisseria* sp.), perform a nitrite test (NO_2) in cavity 8 (PO_4/NO_2) by adding 2 drops each of RapID Nitrate A and B Reagents. Interpret test as noted in Table 2.

   Note: Negative test color development may be slow. Allow a full five minutes before scoring as positive.
6. Reference the microcode obtained on the report form in ERIC for the identification.

RESULTS AND RANGE OF EXPECTED VALUES
The RapID NH Differential Chart and the *Haemophilus* Biotype Chart illustrate the expected results for RapID NH System. Differential Chart results are expressed as a series of positive percentages for each system test. This information statistically supports the use of each test and provides the basis, through numerical coding of digital test results, for a probabilistic approach to the identification of the test isolate.

Identifications are made using individual test scores from RapID NH panels in conjunction with other laboratory information (i.e., Gram stain, oxidase, growth on differential or selective media) to produce a pattern that statistically resembles known reactivity for taxa recorded in the RapID NH System database. These patterns are compared through the use of RapID NH Differential Chart, or by derivation of a microcode and the use of ERIC.

Table 2. Interpretation of RapID NH Panel Tests*

Cavity #	Test Code	Reagent	Reaction		Comments
			Positive	Negative	
Before Reagent Addition:					
1 2 3	PRO GGT ONPG	None	Yellow	Clear or tan	Any development of a distinct yellow color should be scored as positive.
4 5	GLU SUC	None	Yellow, gold, or yellow-orange	Red, red-orange, or orange	Only a distinct yellow, gold, or yellow-orange should be scored as positive. All other colors should be scored as negative.
6	EST	None	Yellow, gold, or yellow-orange	Red, red-orange, or orange	**Note:** A red layer may form on the top of the cavity. Gently shake the panel or stir with an applicator stick before scoring.
7	RES	None	Pink	Purple, blue, or violet	Only the development of a significant pink color should be scored as positive. All other colors should be scored as negative.
8	PO_4	None	Yellow	Clear, tan, straw, or very pale yellow	Only the development of a significant yellow color throughout the cavity should be scored as positive.
9 10	ORN URE	None	Red, violet, or purple	Yellow or orange	
After Reagent Addition:					
9	NO_3	RapID Nitrate A RapID Nitrate B	Red or orange	Yellow	Any development of a red or orange color should be scored as positive
10	IND	RapID Spot Indole	Brown or black	Orange or red	Any development of a brown or black color should be scored as positive.
8**	NO_2	RapID Nitrate A RapID Nitrate B	Clear, tan, or straw	Pink or red	Any development of red or pink color should be scored as negative.

***NOTE:** Panels should be read by looking down through the reaction wells against a white background.

****NO_2 Test:** Perform the NO_2 test when the PRO test (cavity 1) is the **only** positive test and the test isolate is a gram-negative coccus (suspect *Neisseria* sp.). Negative test color development may be slow. Allow a full 5 minutes for color development before reading and recording NO_2 reactions.

QUALITY CONTROL
All lot numbers of RapID NH System have been tested using the following quality control organisms and have been found to be acceptable. Testing of control organisms should be performed in accordance with established laboratory quality control procedures. If aberrant quality control results are noted, patient results should not be reported. Table 3 lists expected results for the selected battery of test organisms.

Notes:
- The quality control of RapID Reagents is accomplished by obtaining the expected reactions for tests requiring the addition of the reagents (cavities 8-10).
- Organisms which have been repeatedly transferred on agar media for prolonged periods may provide aberrant results.
- Quality control strains should be stored frozen or lyophilized. Prior to use, quality control strains should be transferred 2-3 times from storage on an agar medium that is recommended for use with RapID NH System.
- Formulations, additives, and ingredients of culture media vary from manufacturer to manufacturer and may vary from batch to batch. As a result, culture media may influence constitutive enzymatic activity of designated quality control strains. If quality control strain results differ from the patterns indicated, a subculture onto medium from a different batch or from another manufacturer will often resolve quality control discrepancies.

Table 3. Quality Control Chart for RapID NH Panels

Organism	PRO	GGT	ONPG	GLU	SUC	EST	RES	PO_4	ORN	URE	NO_3	IND	NO_2
***Haemophilus influenzae* Biotype I[a] ATCC® 9006**	–	–	–	+	–	–	–	+	+	+	+	+	–
OR *Aggregatibacter aphrophilus* ATCC® 7901	–	–	+	+	+	–	V	+	–	–	V	–	–
Aggregatibacter aphrophilus ATCC® 49146	V	+	+	+	+	–	V	+	–	–	+	–	V
Oligella urethralis ATCC® 17960	V	+	–	–	–	–	+	–	–	–	–	–	V
***Moraxella catarrhalis*[a] ATCC® 8176**	+	–	–	–	–	+	V	–	V	–	V	–	+

+, positive; –, negative; V, variable

[a]**Key indicator strains** demonstrate acceptable performance of the most labile substrate in the system and reactivity in a significant number of wells, according to Clinical and Laboratory Standards Institute recommendations for streamlined quality control.[26]

LIMITATIONS

1. The use of RapID NH System and the interpretation of results requires the knowledge of a competent laboratorian who is trained in general microbiological methods and who judiciously makes use of training, experience, specimen information, and other pertinent procedures before reporting the identification obtained using RapID NH System.
2. Specimen source, oxidase reaction, Gram stain characteristics, and growth on selective agars should be considered when using RapID NH System.
3. RapID NH System must be used with pure cultures of test organisms. The use of mixed microbial populations or direct testing of clinical material without culture will result in aberrant results.
4. RapID NH System is designed for use with the taxa listed in RapID NH Differential Chart. The use of organisms not specifically listed may lead to misidentifications.
5. Expected values listed for RapID NH System tests may differ from conventional test results or previously reported information.
6. The accuracy of RapID NH System is based upon the statistical use of a multiplicity of specially designed tests and an exclusive, proprietary database. The use of any single test found in the RapID NH System to establish the identification of a test isolate is subject to the error inherent in that test alone.
7. PRO-negative strains of *N.* gonorrhoeae have been reported.[18] When referenced in ERIC, a microcode derived from a PRO-negative *N. gonorrhoeae* will result in a probablility overlap condition with *Kingella kingae*. However, such an overlap carries significant probability of *N. gonorrhoeae* as the first choice. Further testing is necessary to resolve the overlap condition. The superoxol test (30% hydrogen peroxide) can be used to differentiate *N. gonorrhoeae* (positive) and *K. kingae* (negative).[2,27]
8. GGT-negative strains of *Neisseria meningitidis* have been reported.[28] If suspected, additional testing, such as carbohydrate acidification (i.e., maltose and glucose), is required to definitively identify PRO-positive, GGT-negative isolates that are otherwise characteristic of of *N. meningitidis* or *N. gonorrhoeae*.

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

The performance characteristics of RapID NH System have been established by laboratory testing of reference and stock cultures, and fresh clinical isolates.[3,9]

RapID NH Differential Chart

Organism	PRO	GGT	ONPG	GLU	SUC	EST	RES	PO_4	ORN	URE	NO_3	IND
Aggregatibacter actinomycetemcomitans[a]	46	98	1	95	16	59	39	58	1	0	79	0
Aggregatibacter aphrophilus[b]	2	92	96	98	98	12	90	99	0	0	90	0
Cardiobacterium hominis	12	96	0	79	63	0	93	0	0	0	0	99
Eikenella corrodens	86	0	9	0	0	0	23	0	97	0	93	0
Gardnerella vaginalis	99	0	77	91	44	1	12	5	0	0	0	0
Haemophilus ducreyi	0	0	0	8	0	0	0	79	0	0	96	0
Haemophilus haemolyticus	0	0	0	97	0	0	13	99	0	99	96	90
Haemophilus influenzae[c]	4	0	0	98	0	2	9	99	50	50	96	50
Haemophilus parahaemolyticus	0	0	88	98	95	0	12	99	34	99	99	0
Haemophilus parainfluenzae	2	0	93	98	96	0	12	99	50	50	96	50
Haemophilus segnis	0	0	90	52	33	0	24	98	0	0	96	0
Kingella denitrificans	93	0	0	91	0	5	91	0	0	0	94	0
Kingella kingae	19	0	0	76	0	0	57	98	0	0	0	0
Moraxella atlantae	0	22	0	0	0	8	90	96	0	0	0	0
Moraxella catarrhalis	39	0	0	0	0	99	92	0	8	0	63	0
Moraxells lacunata	0	0	0	0	0	0	96	5	0	0	88	0
Moraxella nonliquefaciens	8	0	0	0	0	0	94	0	0	0	96	0
Moraxella osloensis	4	39	0	0	0	0	93	27	0	0	9	0
Neisseria cinerea	99	0	0	0	0	0	68	0	0	0	0	0
Neisseria elongata subsp. *nitroreducens*[d]	79	0	0	0	0	0	91	0	0	0	89	0
Neisseria flavescens	92	9	0	0	0	0	99	96	0	0	0	0
Neisseria gonorrhoeae	98[h]	0	0	87	0	1	4	0	0	0	0	0
Neisseria lactamica	96	0	99	97	2	5	0	18	0	0	0	0
Neisseria meningitidis	93	98[i]	0	96	0	0	62	8	2	0	0	0
Neisseria mucosa	96	2	0	95	92	0	92	1	0	0	95	0
Neisseria sicca/subflava	97	14	0	95	96	2	96	9	0	0	0	0
Neisseria weaveri/elongata[e]	99	0	0	0	0	0	96	0	0	0	0	0
Oligella ureolytica	12	99	0	0	0	0	98	9	0	99	0	0
Oligella urethralis	39	99	0	0	0	0	99	0	0	0	0	0
Pasteurella multocida	0	0	0	97	96	0	46	99	94	0	98	99
Psychrobacter phenylpyruvicus[f]	0	7	0	0	0	18	95	5	31	95	62	0
Suttonella indologenes[g]	7	92	0	96	84	31	98	90	0	0	0	99

[a]Previously designated *Haemophilus actinomycetemcomitans*.
[b]Previously designated *Haemophilus aphrophilus.*
[c]Includes biogroup *aegyptius*.
[d]Previously designated CDC group M-6.
[e]Previously designated CDC group M-5 (*Neisseria weaveri*).
[f]Previously designated *Moraxella phenylpyruvica.*
[g]Previously designated *Kingella indologenes.*
[h]PRO-negative strains of *Neisseria gonorrhoeae* have been reported.[18]
[i]GGT-negative strains of *Neisseria meningitidis* have been reported.[28]

Haemophilus Biotype Chart[a]

Organism	IND	ORN	URE
Haemophilus influenzae			
Biotype I	+	+	+
Biotype II	+	+	-
Biotype III and biogroup *aegyptius*[b]	–	+	-
Biotype IV	-	+	+
Biotype V	+	-	+
Biotype VI	-	-	+
Biotype VII	+	-	–
Biotype VIII	–	-	–
Haemophilus parainfluenzae			
Biotype I	-	-	+
Biotype II	-	+	+
Biotype III	–	+	-
Biotype IV	+	+	+
(Biotype V)[c]	–	-	–
Biotype VI	+	-	+
Biotype VII	+	+	-
Biotype VIII	+	-	-

[a]Adapted from *Manual of Clinical Microbiology*. 10th ed.[15]

[b]Analysis of outer membrane protein profiles can be used to differentiate *H. influenzae* biotype III and biogroup *aegyptius.*[29]

[c]It is currently unclear whether these strains are *H. parainfluenzae*, *H. segnis,* or *H. paraphrophilus.*

BIBLIOGRAPHY

1. Krieg, N.R. and J.G. Holt. 1984. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Vol.1. Williams & Wilkins, Baltimore, MD.
2. Murray, P.R., E.J. Baron, J.H. Jorgensen, M.L. Landry, and M.A. Pfaller. 2007. Manual of Clinical Microbiology. 9th ed. ASM Press, Washington, D.C.
3. Eriquez, L.A. and N.E. Hodinka. 1983. J. Clin. Microbiol. 18:1032-1039.
4. Doern, G.V. and S. A. Morse. 1980. J. Clin. Microbiol. 11:193-195.
5. Boyce, J.M. and E.B. Mitchell, Jr. 1985. J. Clin. Microbiol. 22:731-734.
6. Hoke, C. and N.A. Vedros. 1982. Int. J. Syst. Bacteriol. 32:51-56.
7. Knapp, J.S., P.A. Totten, M.H. Mulks, and B.H. Minshew. 1984. J. Clin. Microbiol. 19:63-67.
8. Doern, G.V. and K.C. Chapin. 1987. Diagn. Microbiol. Infect. Dis. 7:269-272.
9. Dolter, J., L. Bryant, and J.M. Janda. 1990. Diagn. Microbiol. Infect. Dis. 13:265-276.
10. Peterson, E.H. and E.J. Hsu. 1978. J. Food Sci. 43:1853-1856.
11. Guilbault, G.G. 1970. Enzymatic Methods of Analysis. p. 43-51. Pergamon Press, New York, NY.
12. Balows, A., W.J. Hausler, K.L. Herrmann, H.D. Isenberg, and H.J. Shadomy. 1991. Manual of Clinical Microbiology. 5th ed. ASM, Washington, D.C.
13. Barnes, E.H. and J.F. Morris. 1957. J. Bacteriol. 73:100-104.
14. Evangelista, A.T. and H.R. Beilstein. 1993. Cumitech 4A, Laboratory Diagnosis of Gonorrhea. Coordinating ed., C. Abramson. ASM, Washington, D.C.
15. Versalovic, J., K.C. Carroll, G. Funke, J.H. Jorgensen, M.L. Landry, and D.W. Warnock. 2011. Manual of Clinical Microbiology. 10th ed. ASM Press, Washington, D.C.
16. Forbes, B.A., D.F. Sahm, and A.S. Weissfeld. 2007. Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology. 12th ed. Mosby Elsevier, St. Louis, MO.
17. Isenberg, H.D. 2004. Clinical Microbiology Procedures Handbook. 2nd ed. ASM Press, Washington, D.C.
18. Blackmore, T., G. Hererra, S. Shi, P. Bridgewater, L. Wheeler, and J. Byrne. 2005. J. Clin. Microbiol. 43:4189-4190.
19. Blazevic, D.J. and G.M. Ederer. 1975. Principles of Biochemical Tests in Diagnostic Microbiology. John Wiley & Sons, New York, NY.
20. Bodansky, O. and A.L. Latner. 1975. Advances in Clinical Chemistry. Vol. 17, p. 53-61. Academic Press, New York, NY.
21. Dogan, B., S. Asikainen, and H. Jousimies-Somer. 1999. J. Clin. Microbiol. 37:742-747.
22. Nagatsu, T., M. Hino, H. Fuyamada, T. Hayakawa, S. Sakakibara, Y. Nakagawa, and T. Takemoto. 1976. Anal. Biochem. 74:466-476.
23. Norris, J.R. and D.W. Ribbons. 1976. Methods in Microbiology. Vol. 9, p. 1-14. Academic Press, New York, NY.
24. Riou, J.Y. 1977. Ann. Bull. Clin. 35:73-87.
25. Westley, J.R., P.J. Anderson, V.A. Close, B. Halpern, and E.M. Lederberg. 1967. Appl. Microbiol. 15-822-825.
26. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). 2008. Quality Control for Commercial Microbial Identification Systems; Approved Guideline. M50-A. CLSI, Wayne, PA.
27. Saginur, R., B. Clecner, J. Portnoy, and J. Mendelson. 1982. J. Clin. Microbiol. 15:475-477.
28. Takahashi, H., H. Tanaka, H. Inouyr, T. Kuroki, Y. Watanabe, S. Yamai, and H. Watanabe. 2002. J. Clin. Microbiol. 40:3035-3037.
29. Koneman, E.W., S.D. Allen, W.M. Janda, P.C. Schreckenberger, and W.C. Winn. 1997. Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology. 5th ed. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, PA.

PACKAGING

REF R8311001, RapID NH System..... 20 Tests/Kit

Symbol Legend

REF	Catalog Number
IVD	In Vitro Diagnostic Medical Device
LAB	For Laboratory Use
	Consult Instructions for Use (IFU)
	Temperature Limitation (Storage Temp.)
LOT	Batch Code (Lot Number)
	Use By (Expiration Date)
EC REP	Authorized European Representative
	Manufacturer

RapID™ is a trademark of Thermo Fisher Scientific and its subsidiaries.
ERIC™ is a trademark of Thermo Fisher Scientific and its subsidiaries.
ATCC® is a registered trademark of American Type Culture Collection.

12076 Santa Fe Drive
Lenexa, KS 66215, USA
www.remel.com
(800) 255-6730
International: (913) 888-0939

EC REP

Remel Europe Ltd.
Clipper Boulevard West, Crossways
Dartford, Kent, DA2 6PT, UK

CE

For technical information contact your local distributor.

IFU 8311001, Revised September 4, 2013 Printed in U.S.A.

remel

Système RapID™ NH

INDICATION

Le système RapID NH de Remel est une microméthode qualitative faisant appel à des substrats conventionnels et chromogéniques pour l'identification de certaines espèces médicalement importantes du genre *Neisseria* ou *Haemophilus*, ainsi que d'autres bactéries isolées à partir de prélèvements cliniques d'origine humaine. Le tableau différentiel RapID NH contient la liste intégrale des organismes concernés par le système RapID NH.

Les organismes appartenant à la famille des *Neisseriaceae* se caractérisent comme des coques Gram négatif, appariées ou agglutinées, ou des bâtonnets épais Gram négatif (souvent des bacilles à forme coccoïde) appariés ou disposés en chaînettes courtes. La famille des *Neisseriaceae* se compose de quatre genres: *Neisseria*, *Moraxella*, *Acinetobacter* et *Kingella*.[1] Les membranes muqueuses constituent l'habitat naturel de ces organismes dont seules deux espèces, *N. gonorrhoeae* et *N. meningitidis*, sont considérées comme des pathogènes primaires.[2] La plupart des autres *Neisseriaceae* isolées à partir de prélèvements d'origine humaine sont classées parmi les pathogènes opportunistes. Étant donné cette différence entre *Neisseriaceae* en matière d'infection humaine, l'intérêt principal du laboratoire d'analyses médicales a été l'identification et la confirmation des isolats de gonocoques et méningocoques et la différenciation de ces espèces des autres *Neisseriaceae*.

Le système RapID NH a été conçu pour permettre l'identification sans équivoque de *N. gonorrhoeae*, *N. meningitidis* et *Moraxella catarrhalis*, et pour différencier ces organismes des autres espèces de *Neisseria* et *Moraxella*, de groupes M du CDC et de *Kingella*.[2-7]

Les espèces du genre *Haemophilus* sont des parasites obligatoires qui sont associés aux voies respiratoires chez l'homme et l'animal. *Haemophilus influenzae* est l'agent étiologique de différentes infections chez l'homme, notamment les infections chroniques des voies respiratoires et la méningite. D'autres espèces sont associées aux maladies vénériennes et à la conjonctivite. La différenciation des espèces pathogènes de *Haemophilus* de celles qui constituent la flore normale est une donnée de laboratoire importante. Le système RapID NH permet d'identifier et de différencier les espèces de *Haemophilus* et de typer biochimiquement *Haemophilus influenzae* et *Haemophilus parainfluenzae*.[2,8]

RÉSUMÉ ET EXPLICATION

Le système RapID NH se compose de plaquettes RapID NH constituées de plusieurs cavités réactives moulées à la périphérie d'un plateau jetable en plastique. Les cavités réactives contiennent des réactifs déshydratés et le plateau autorise l'inoculation simultanée de toutes les cavités par une quantité prédéterminée d'inoculum. Une suspension de l'organisme testé dans le liquide d'inoculation RapID est utilisée comme inoculum pour la réhydratation et le début des réactions au test. Après incubation de la plaquette, la réactivité de chaque cavité de test est déterminée par observation du développement d'une coloration. Dans certains cas, il est nécessaire d'ajouter des réactifs dans les cavités pour provoquer un virage de couleur. Le modèle résultant de scores positifs et négatifs au test sert de base à l'identification de l'isolat du test en comparant les résultats obtenus à des modèles de réactivité enregistrés dans une base de données, via l'utilisation d'Electronic RapID Compendium (ERIC™) ou grâce au tableau différentiel RapID NH.

PRINCIPE

Les tests utilisés avec le système RapID NH reposent sur la détection par différents indicateurs de la dégradation microbienne de substrats spécifiques. Les réactions employées qui combinent tests conven-tionnels et tests chromogéniques sur substrat unique sont décrites ci-après dans le tableau 1.

RÉACTIFS*

Liquide d'inoculation RapID (R8325102, fourni séparément) (1 ml/tube)

KCl	6 g
$CaCl_2$	0,5 g
Eau déminéralisée	1000,0 ml

Réactif Nitrate A RapID (R8309003, fourni séparément) (15 ml/flacon)

Acide sulfanilique	8,0 g
Acide acétique glacial	280,0 ml
Eau déminéralisée	720,0 ml

Réactif Nitrate B RapID (R8309004, fourni séparément) (15 ml/flacon)

n,n-diméthyl-1-naphthylamine	6,0 g
Acide acétique glacial	280,0 ml
Eau déminéralisée	720,0 ml

Réactif Spot Indole RapID (R8309002, fourni séparément) (15 ml/flacon)

ρ-diméthylamino-cinnamaldéhyde	10,0 g
Acide chlorhydrique	100,0 ml
Eau déminéralisée	900,0 ml

*Avec compensations éventuelles pour satisfaire les normes de performance.

PRÉCAUTIONS

Ce produit exclusivement destiné à un usage diagnostique *in vitro* ne doit être utilisé que par des personnes dûment formées. Toutes les précautions contre les risques microbiologiques doivent être prises et il est indispensable de bien stériliser les prélèvements, les récipients, les milieux et les plaquettes de test après usage. Toutes les instructions doivent être lues attentivement et scrupuleusement respectées.

Attention !

1. Les réactifs nitrate A et nitrate B RapID et le réactif spot indole RapID peuvent irriter la peau, les yeux et les voies respiratoires.
2. Se reporter aux fiches signalétiques pour les informations détaillées sur les réactifs chimiques.

Tableau 1. Principes et composants du système RapID NH

N° cavité	Code du test	Ingrédients réactifs	Quantité	Principe	N° dans la bibliographie
Avant ajout de réactif:					
1	PRO	Proline-ρ-nitroanilide	0,1 %	L'hydrolyse du substrat amide incolore par des enzymes spécifiques entraîne la libération de p-nitrophénol jaune.	1-3, 7-10
2	GGT	γ-glutamyl-ρ-nitroanilide	0,12 %		
3	ONPG	σ-nitrophényl-β-D-galactoside	0,25 %	L'hydrolyse du substrat glycoside incolore entraîne la libération de o-nitrophénol jaune.	1, 11
4	GLU	Glucose	2,0 %	L'hydrolyse du sucre produit des éléments acides entraînant une baisse du pH et le changement de l'indicateur.	1, 11
5	SUC	Sucrose	2,0 %		
6	EST	Ester d'acide gras	0,5 %	L'hydrolyse de l'ester d'acide gras produit des éléments acides entraînant une baisse du pH et le changement de l'indicateur.	1
7	RES	Résazurine	0,1 %	L'hydrolyse de la résazurine en résorufine entraîne un virage de couleur.	8
8	PO_4	p-nitrophényl phosphate	0,1 %	L'hydrolyse du phosphoester incolore entraîne la libération de p-nitrophénol jaune.	12
9	ORN	Ornithine	0,8 %	L'hydrolyse de l'ornithine produit des éléments basiques entraînant une hausse du pH et le changement de l'indicateur.	4, 6, 13
10	URE	Urée	0,36 %	L'hydrolyse de l'urée produit des éléments basiques entraînant une hausse du pH et le changement de l'indicateur.	6, 13
Après ajout de réactif:					
8	NO_2	Nitrite	1,2 %	La réduction du nitrite en produits azotés est détectée par l'incapacité à diazoter des réactifs à base de nitrate.	1, 2, 6
9	NO_3	Nitrate	0,3 %	La réduction du nitrate en nitrite est détectée par la capacité à diazoter des réactifs à base de nitrate.	6, 13, 14
10	IND	Tryptophane	0,16 %	L'utilisation du tryptophane provoque la formation d'indole qui est détecté par le réactif spot indole RapID.	6, 13, 14

FRENCH

STOCKAGE
Le système RapID NH, le réactif spot indole RapID et les réactifs nitrate A et nitrate B RapID doivent être conservés dans leurs conditionnements d'origine et stockés à une température de 2 à 8°C jusqu'à utilisation. Attendre que les produits soient parvenus à température ambiante avant de les utiliser. Sortir seulement le nombre de plaquettes nécessaires au test. Refermer immédiatement le sachet en plastique et remettre le produit dans son lieu de stockage entre 2 et 8°C. Une fois sorties, les plaquettes doivent être utilisées le jour même. Le liquide d'inoculation RapID doit être conservé dans son flacon d'origine et stocké à température ambiante (20 à 25°C) jusqu'à utilisation.

DÉTÉRIORATION DU PRODUIT
Ce produit ne doit pas être utilisé si (1) la couleur des réactifs a changé, (2) la date de péremption est dépassée, (3) le plateau en plastique est cassé ou son dispositif de fermeture est endommagé ou (4) d'autres signes de détérioration sont présents.

COLLECTE, STOCKAGE ET TRANSPORT DE PRÉLÈVEMENTS
Les prélèvements doivent être collectés et manipulés conformément aux recommandations en vigueur dans la profession.[2,16,17]

MATÉRIEL FOURNI
(1) 20 plaquettes RapID NH, (2) 20 formulaires de rapport, (3) 2 boîtes d'incubation en aggloméré, (4) mode d'emploi.

MATÉRIEL REQUIS NON FOURNI
(1) Dispositif de stérilisation d'anse, (2) anse d'inoculation, écouvillon, récipients de collecte, (3) incubateurs, systèmes environnementaux alternatifs, (4) milieux supplémentaires, (5) organismes de contrôle qualité, (6) réactifs de coloration de Gram, (7) lames pour microscope, (8) réactif oxydase, (9) porte-cotons, (10) liquide d'inoculation RapID-1 ml (R8325102), (11) échelle de turbidité de McFarland n 3 ou équivalent (R20413), (12) pipettes, (13) réactif spot indole RapID (R8309002), (14) réactif nitrate A RapID (R8309003), (15) réactif nitrate B RapID (R8309004), (16) ERIC (Electronic RapID Compendium, R8323600).

PROCÉDURE
Il existe deux procédures différentes pour le système RapID NH : la procédure usuelle et la procédure en 1 heure.

La **procédure en 1 heure** n'est applicable qu'aux **gonocoques suspectés** obtenus à partir de **prélèvements issus de l'appareil urogénital** et isolés sur **géloses sélectives**.

La **procédure usuelle** doit être utilisée pour les *Neisseriaceae* obtenues à partir de toutes les autres parties du corps et isolées sur tous les autres milieux. *Haemophilus* et les autres bactéries doivent être testés selon la procédure usuelle.

Préparation de l'inoculum:
1. Cultiver les organismes à tester en culture pure et effectuer une coloration de Gram et un test oxydase avant de les utiliser dans le système.

   Remarque : Évaluer attentivement la morphologie cellulaire et les résultats de la coloration de Gram, car les bâtonnets des bacilles de forme coccoïde peuvent s'apparenter aux diplocoques dans les frottis.
2. Les organismes à tester peuvent être prélevés à partir de différents milieux sélectifs et non sélectifs de croissance sur gélose. Les types de milieu suivants sont recommandés :

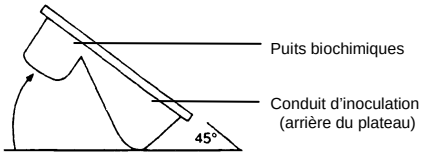
   Milieux non sélectifs : gélose au chocolat, gélose nutritive, gélose de soja trypsique avec ou sans 5 % de sang de mouton.

   Milieux sélectifs : gélose de Thayer-Martin, gélose de Martin-Lewis, gélose New York City.

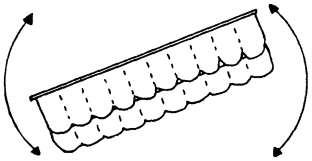
   Remarques:
   - Seules les géloses sélectives peuvent être utilisées pour réaliser la procédure en 1 heure.
   - Utiliser de préférence des boîtes de culture âgées de 18 à 24 heures pour la préparation de l'inoculum. Les isolats à prolifération lente peuvent être testés sur des boîtes de culture âgées de 48 heures.
   - L'utilisation de milieux autres que ceux recommandés peut nuire aux performances du test.
3. À l'aide d'un porte-coton ou d'une anse d'inoculation, suspendre une quantité suffisante de croissance bactérienne prélevée sur la boîte de culture sur gélose dans le liquide d'inoculation (1 ml) RapID afin d'obtenir une suspension de turbidité comparable à l'échelle de McFarland n° 3 ou un équivalent.

   Remarques:
   - Une suspension de turbidité nettement inférieure à l'échelle de McFarland n° 3 provoque des réactions aberrantes.
   - Les suspensions bactériennes d'une turbidité **légèrement** supérieure à l'échelle de McFarland n° 3 sont sans effet sur les performances du test et sont recommandées pour les cultures souches, les souches destinées au contrôle qualité et la procédure en 1 heure.
   - Prélever Mélanger les suspensions de façon homogène en utilisant, le cas échéant, un agitateur-mélangeur vortex.
   - Les suspensions doivent être utilisées dans les 15 minutes suivant leur préparation.
4. éventuellement une pleine anse de la suspension à tester et ensemencer une boîte de culture sur gélose pour en vérifier la pureté et effectuer tout test supplémentaire, le cas échéant. Incuber la boîte de culture pendant 18 à 24 heures à une température comprise entre 35 et 37°C.

Inoculation des plaquettes RapID NH:
1. Retirer la membrane de la plaquette recouvrant le port d'inoculation en tirant vers le haut et vers la gauche la languette portant la mention « Peel to Inoculate ».
2. À l'aide d'une pipette, transférer doucement l'**intégralité** du contenu du tube de liquide d'inoculation dans l'angle inférieur droit de la plaquette. Reboucher le port d'inoculation en remettant en place la languette précédemment retirée.
3. Après avoir ajouté la suspension, tout en maintenant la plaquette en contact avec une surface plane, écarter la plaquette des cavités de test en la plaçant à un angle d'environ 45 degrés (voir ci-dessous).

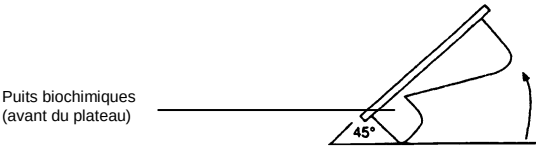


4. Alors qu'elle est toujours penchée, agiter doucement la plaquette pour obtenir une distribution homogène de l'inoculum le long des déflecteurs arrière, comme sur l'illustration ci-dessous.



5. Tout en stabilisant la plaquette en position horizontale (le plus simple est de faire reposer le fond des cavités réactives sur la paillasse), faire basculer doucement la plaquette vers les cavités réactives jusqu'à ce que l'inoculum s'y écoule depuis les déflecteurs (voir ci-dessous). Tout l'inoculum doit s'évacuer de la partie arrière de la plaquette.

   Remarque: Si le mouvement de basculement de la plaquette est trop brusque, il se peut que de l'air soit emprisonné au point de jonction de la cavité de test, d'où une restriction du déplacement du liquide.



6. Remettre la plaquette en position horizontale. Le cas échéant, tapoter doucement la plaquette sur la paillasse pour évacuer l'air emprisonné dans les cavités.

   Remarques:
   - Examiner les cavités de test. Celles-ci doivent être remplies de façon uniforme, sans bulles. De très légères irrégularités de remplissage des cavités sont acceptables et n'affectent pas les performances du test. Si la plaquette comporte des problèmes de remplissage importants, elle doit être jetée et une autre plaquette doit être inoculée.
   - Terminer l'inoculation de chaque plaquette destinée à recevoir le liquide d'inoculation avant d'en inoculer de nouvelles.
   - L'inoculum ne doit pas rester dans la partie arrière de la plaquette pendant des périodes prolongées avant la fin de la procédure.

Incubation des plaquettes RapID NH:
Si l'on utilise la **procédure de 1 heure**, incuber les plaquettes inoculées à 35-37°C dans un incubateur sans CO_2 pendant **1 heure**. Si l'on utilise la **procédure générale**, incuber les plaquettes inoculées à 35-37°C dans un incubateur sans CO_2 pendant **4 heures**. Pour faciliter la manipulation, les plaquettes peuvent être incubées dans les boîtes d'incubation en aggloméré fournies avec le kit.

FRENCH

Évaluation des plaquettes RapID NH:
Les plaquettes RapID NH contiennent 10 cavités réactives permettant d'enregistrer 12 résultats de tests et, si nécessaire, un treizième résultat de test (NO_2). Les cavités 8 à 10 sont bifonctionnelles, c'est-à-dire que chacune d'elle peut accueillir deux tests. Les tests bifonctionnels sont interprétés une première fois avant l'ajout de réactif, ce qui donne un premier résultat, puis la même cavité est examinée à nouveau après l'ajout de réactif pour obtenir un second résultat. Les cavités de test bifonctionnelles sont indiquées avec le premier test au-dessus de la barre et le second au dessous. Le test nitrite (cavité n° 8), nécessaire uniquement comme indiqué ci-dessous à l'étape 5, est indiqué par un cadre tracé autour du test nécessitant le réactif.

Emplacement de test sur plaquette RapID NH

N° cavité	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Code du test	PRO	GGT	ONPG	GLU	SUC	EST	RES	PO_4	ORN	URE
								NO_2	NO_3	IND

1. Tout en maintenant fermement la plaquette RapID NH sur la paillasse, retirer la membrane recouvrant les cavités réactives en tirant vers le haut et vers la gauche la languette située en bas à droite.
2. Sans ajouter de réactif, évaluer les résultats des cavités 1 (PRO) à 10 (URE), de gauche à droite, conformément au guide d'interprétation du tableau 2. Consigner les résultats dans les cases du formulaire prévues à cet effet, en utilisant le code indiqué au-essus de la barre pour les tests bifonctionnels.
3. Ajouter les réactifs suivants aux cavités indiquées :
   - Ajouter 2 gouttes de réactif nitrate A RapID dans la cavité n°9 (NO_3).
   - Ajouter 2 gouttes de réactif nitrate B RapID dans la cavité n°9 (NO_3).
   - Ajouter deux gouttes de réactif spot indole RapID dans la cavité n°10 (IND).

   Remarque: Seul le réactif spot indole RapID doit être utilisé. Le réactif indole de Kovacs ou d'Ehrlich ne donne pas de résultats satisfaisants.
4. Laisser la coloration se développer pendant 1 à 5 minutes. Interpréter les résultats des cavités 9 et 10. Consigner les résultats dans les cases du formulaire prévues à cet effet, en utilisant le code indiqué au-dessus de la barre pour les tests bifonctionnels.
5. Si le test PRO (cavité 1) est le seul test positif et que l'isolat à tester est un coque Gram négatif (Neisseria sp. suspecté), effectuer un test nitrite ($NO_{2)}$ dans la cavité 8 ($PO_4/NO_{2)}$ en ajoutant 2 gouttes de réactif nitrate A et 2 gouttes de réactif nitrite B RapID. Interpréter le test conformément au tableau 2.

   Remarque: Le développement d'une coloration de test négative peut être lent. Laisser la coloration se développer pendant 5 minutes avant d'interpréter le test comme positif.
6. Identifier le microcode obtenu sur le formulaire de rapport à l'aide de ERIC.

RÉSULTATS ET PLAGE DES VALEURS ATTENDUES
Le tableau différentiel RapID NH et le tableau des biotypes de *Haemophilus* illustrent les résultats escomptés pour le système RapID NH. Les résultats du tableau différentiel sont exprimés sous la forme d'une série de pourcentages positifs pour le test de chaque système. Ces informations apportent un soutien statistique à l'utilisation de chaque test et, par un codage chiffré des résultats de tests numériques, constituent la base d'une approche probabiliste pour l'identification de l'isolat à tester.

Les identifications s'effectuent en associant les résultats des tests réalisés sur les plaquettes RapID NH à d'autres tests de laboratoire (p. ex., coloration de Gram, test oxydase, croissance en milieu différentiel ou sélectif) pour définir un profil ressemblant statistiquement à la réactivité connue de taxons enregistrés dans la base de données du système RapID. Ces profils sont comparés à l'aide du tableau différentiel RapID NH ou déterminés à partir d'un microcode et de ERIC.

Tableau 2. Interprétation des tests sur plaquette RapID NH*

N cavité	Code du test	Réactif	Réaction		Commentaires
			positive	négative	
Avant ajout de réactif:					
1 2 3	PRO GGT ONPG	Aucun	Jaune	Vague coloration ou brun clair	Toute coloration jaune bien définie doit être considérée comme la marque d'un test positif.
4 5	GLU SUC	Aucun	Jaune, or ou jaune orangé	Rouge, rouge orangé ou orange	Seule une coloration jaune, or ou jaune orangée bien définie doit être considérée comme la marque d'un test positif. Toutes les autres colorations sont à considérer comme négatives.
6	EST	Aucun	Jaune, or ou jaune orangé	Rouge, rouge orangé ou orange	**Remarque :** Une couche rouge peut se former en haut de la cavité. Agiter doucement la plaquette ou mélanger à l'aide d'un écouvillon avant d'évaluer la plaquette.
7	RES	Aucun	Rose	Violacé, bleu ou violet	Seule une coloration rose bien définie doit être considérée comme la marque d'un test positif. Toutes les autres colorations sont à considérer comme négatives.
8	PO_4	Aucun	Jaune	Vague coloration, brun clair, paille ou jaune très pâle	Seule une coloration jaune bien définie dans toute la cavité doit être considérée comme la marque d'un test positif.
9 10	ORN URE	Aucun	Rouge, violet ou violacé	Jaune ou orange	
Après ajout de réactif:					
9	NO_3	Nitrate A RapID Nitrate B RapID	Rouge ou orange	Jaune	Toute coloration rouge ou orange bien définie doit être considérée comme la marque d'un test positif.
10	IND	Spot indole RapID	Marron ou noir	Orange ou rouge	Toute coloration marron ou noire bien définie doit être considérée comme la marque d'un test positif.
8**	NO_2	Nitrate A RapID Nitrate B RapID	Vague coloration, brun clair ou paille	Rose ou rouge	Toute coloration rouge ou rose doit être considérée comme la marque d'un test négatif.

***REMARQUE :** Les plaquettes doivent être examinées en regardant les puits de réaction contre un fond blanc.

****Test NO_2 :** Effectuer le test NO_2 lorsque le test PRO (cavité 1) est le **seul** test positif et que l'isolat à tester est une coque à Gram négatif (*Neisseria* sp. putative). Le développement d'une coloration de test négative peut être lent. Laisser la coloration se développer pendant 5 minutes avant d'interpréter et de consigner le résultat des réactions NO_2.

CONTRÔLE QUALITÉ
Tous les numéros de lot du système RapID NH ont été testés avec les organismes de contrôle qualité suivants et reconnus acceptables. Les tests des organismes de contrôle effectués doivent satisfaire aux critères établis pour les procédures de contrôle qualité en laboratoire. En cas de résultats de contrôle qualité aberrants, ne pas retenir les résultats obtenus sur les échantillons cliniques. Le tableau 3 donne la liste des résultats escomptés pour les organismes soumis à la batterie de tests sélectionnée.

Remarques:
- Le contrôle qualité du réactif RapID s'effectue par l'obtention des réactions attendues pour les tests nécessitant l'ajout de réactifs (cavités 8 à 10).
- Les organismes ayant été transférés de façon répétée et prolongée dans des milieux gélosés donnent parfois des résultats aberrants.
- Les souches destinées au contrôle qualité doivent être congelées ou lyophilisées. Avant utilisation, ces souches doivent être transférées deux ou trois fois de leur lieu de stockage sur un milieu gélosé recommandé avec le système RapID NH.
- Les formules, les additifs et les ingrédients des milieux de culture varient d'un fabricant à l'autre et peuvent même varier d'un lot à l'autre. Il en résulte que les milieux de culture peuvent parfois influencer l'activité enzymatique constitutive de certaines souches destinées au contrôle qualité. Si les résultats d'une souche contrôle qualité ne sont pas conformes aux profils attendus, une sous-culture implantée dans un milieu provenant d'un autre lot ou d'un autre fabricant élimine souvent ces disparités.

FRENCH

Tableau 3. Contrôle qualité des plaquettes RapID NH

Organisme	PRO	GGT	ONPG	GLU	SUC	EST	RES	PO_4	ORN	URE	NO_3	IND	NO_2
***Haemophilus influenzae*, biotype I [a] ATCC® 9006**	–	–	–	+	–	–	–	+	+	+	+	+	–
Aggregatibacter aphrophilus ATCC® 7901	–	–	+	+	+	–	V	+	–	–	V	–	–
OU *Aggregatibacter aphrophilus* ATCC® 49146	V	+	+	+	+	–	V	+	–	–	+	–	V
Oligella urethralis ATCC® 17960	V	+	–	–	–	–	+	–	–	–	–	–	V
***Moraxella catarrhalis* [a] ATCC® 8176**	+	–	–	–	–	+	V	–	V	–	V	–	+

+, positif ; –, négatif ; V, variable

[a] **Les souches indicatrices principales** présentent des performances acceptables du substrat le plus labile du système et une réactivité dans un nombre important de puits, conformément aux préconisations du « Clinical and Laboratory Standards Institute » relatives à un contrôle de qualité simplifié.[26]

LIMITATIONS

1. L'utilisation du système RapID NH et l'interprétation des résultats exigent l'intervention d'un technicien de laboratoire compétent et formé aux méthodes générales en usage en microbiologie, capable en outre de mettre judicieusement à profit ses connaissances, son expérience, les informations relatives aux échantillons et toutes les autres procédures pertinentes avant d'émettre son avis quant à l'identification obtenue en utilisant ce système.
2. L'origine des prélèvements, le test oxydase, les résultats de la coloration de Gram et de la croissance sur géloses sélectives doivent être pris en compte lors de l'utilisation du système RapID NH.
3. Le système RapID NH doit être utilisé sur des cultures pures des organismes à tester. L'utilisation de populations microbiennes non homogènes ou le test direct de matériel clinique sans culture donne des résultats aberrants.
4. Le système RapID NH est conçu pour être utilisé avec les taxons dont la liste est donnée dans le tableau différentiel RapID NH. L'utilisation d'organismes non recensés dans ces listes peut conduire à des erreurs d'identification.
5. Les valeurs attendues répertoriées pour le système RapID NH peuvent différer des résultats de tests conventionnels ou des informations publiées précédemment.
6. La précision du système RapID NH repose sur l'utilisation statistique d'une multiplicité de tests spécialement conçus et sur une base de données exclusive. L'utilisation individuelle des tests proposés par le système RapID NH dans le but d'établir l'identification d'un isolat de test est sujette aux erreurs inhérentes à ce test pris de façon autonome.
7. Des souches de N. gonorrhoeae PRO négatives ont été rapportées.[18] Lors de l'identification à l'aide du logiciel ERIC, un microcode dérivé d'une souche de N. gonorrhoeae PRO négative entraînera une situation de recouvrement de probabilité avec Kingella kingae. Cependant, un tel recouvrement implique une probabilité significative de N. gonorrhoeae comme premier choix. D'autres analyses sont nécessaires pour résoudre cette situation de recouvrement. Le test du superoxol (30 % de peroxyde d'hydrogène) peut être alors utilisé pour différencier les souches de N. gonorrhoeae (positives) des K. kingae (négatives).[2,27]
8. Des souches GGT négatives de Neisseria meningitidis ont été signalées.[28] En cas de suspicion, une analyse supplémentaire, telle qu'une acidification des glucides (à savoir, le maltose et le glucose), est nécessaire pour identifier définitivement des isolats GGT négatifs et PRO positifs qui sont autrement caractéristiques de N. meningitidis ou N. gonorrhoeae.

PERFORMANCES

Les performances du système RapID NH ont été établies par des tests de laboratoire sur des cultures de référence, des cultures souches et des isolats cliniques frais.[3-9]

Tableau différentiel RapID NH

Organism	PRO	GGT	ONPG	GLU	SUC	EST	RES	PO_4	ORN	URE	NO_3	IND
Aggregatibacter actinomycetemcomitans [a]	46	98	1	95	16	59	39	58	1	0	79	0
Aggregatibacter aphrophilus [b]	2	92	96	98	98	12	90	99	0	0	90	0
Cardiobacterium hominis	12	96	0	79	63	0	93	0	0	0	0	99
Eikenella corrodens	86	0	9	0	0	0	23	0	97	0	93	0
Gardnerella vaginalis	99	0	77	91	44	1	12	5	0	0	0	0
Haemophilus ducreyi	0	0	0	8	0	0	0	79	0	0	96	0
Haemophilus haemolyticus	0	0	0	97	0	0	13	99	0	99	96	90
Haemophilus influenza [c]	4	0	0	98	0	2	9	99	50	50	96	50
Haemophilus parahaemolyticus	0	0	88	98	95	0	12	99	34	99	99	0
Haemophilus parainfluenzae	2	0	93	98	96	0	12	99	50	50	96	50
Haemophilus segnis	0	0	90	52	33	0	24	98	0	0	96	0
Kingella denitrificans	93	0	0	91	0	5	91	0	0	0	94	0
Kingella kingae	19	0	0	76	0	0	57	98	0	0	0	0
Moraxella atlantae	0	22	0	0	0	8	90	96	0	0	0	0
Moraxella catarrhalis	39	0	0	0	0	99	92	0	8	0	63	0
Moraxells lacunata	0	0	0	0	0	0	96	5	0	0	88	0
Moraxella nonliquefaciens	8	0	0	0	0	0	94	0	0	0	96	0
Moraxella osloensis	4	39	0	0	0	0	93	27	0	0	9	0
Neisseria cinerea	99	0	0	0	0	0	68	0	0	0	0	0
Neisseria elongata subsp. *nitroreducens* [d]	79	0	0	0	0	0	91	0	0	0	89	0
Neisseria flavescens	92	9	0	0	0	0	99	96	0	0	0	0
Neisseria gonorrhoeae	98[h]	0	0	87	0	1	4	0	0	0	0	0
Neisseria lactamica	96	0	99	97	2	5	0	18	0	0	0	0
Neisseria meningitidis	93	98[i]	0	96	0	0	62	8	2	0	0	0
Neisseria mucosa	96	2	0	95	92	0	92	1	0	0	95	0
Neisseria sicca/subflava	97	14	0	95	96	2	96	9	0	0	0	0
Neisseria weaveri/elongate [e]	99	0	0	0	0	0	96	0	0	0	0	0
Oligella ureolytica	12	99	0	0	0	0	98	9	0	99	0	0
Oligella urethralis	39	99	0	0	0	0	99	0	0	0	0	0
Pasteurella multocida	0	0	0	97	96	0	46	99	94	0	98	99
Psychrobacter phenylpyruvicus [f]	0	7	0	0	0	18	95	5	31	95	62	0
Suttonella indologenes [g]	7	92	0	96	84	31	98	90	0	0	0	99

[a] Désigné précédemment sous le nom de *Haemophilus actinomycetemcomitans*.
[b] Désigné précédemment sous le nom de *Haemophilus aphrophilus.*
[c] Comprend le biogroupe aegyptius.
[d] Désigné précédemment sous le nom de CDC group M-6.
[e] Désigné précédemment sous le nom de CDC group M-5 (*Neisseria weaveri*).
[f] Désigné précédemment sous le nom de *Moraxella phenylpyruvica.*
[g] Désigné précédemment sous le nom de *Kingella indologenes.*
[h] On a également rapporté des souches PRO négatives de *Neisseria gonorrhoeae.*[18]
[i] Des souches GGT négatives de *Neisseria meningitidis* ont été signalées.[28]

Tableau des biotypes de Haemophilus[a]

Organisme	IND	URE	ORN
Haemophilus influenzae			
Biotype I	+	+	+
Biotype II	+	+	–
Biotype III et biogroupe aegyptius[b]	–	+	–
Biotype IV	–	+	+
Biotype V	+	–	+
Biotype VI	–	–	+
Biotype VII	+	–	–
Biotype VIII	–	–	–
Haemophilus parainfluenzae			
Biotype I	–	–	+
Biotype II	–	+	+
Biotype III	–	+	–
Biotype IV	+	+	+
(Biotype V)[c]	–	–	–
Biotype VI	+	–	+
Biotype VII	+	+	–
Biotype VIII	+	–	–

[a]Adapté de *Manual of Clinical Microbiology*. 2011. 10th ed.[15]

[b]L'analyse des profils de protéines membranaires peut être utilisée pour différencier le biotype III de *H. influenzae* et le biogroupe *aegyptius*.

[c]A ce jour, on ne sait pas avec certitude s'il s'agit de souches de *H. parainfluenzae* ou de souches de *H. segnis* ou *H. paraphrophilus.*

BIBLIOGRAPHIE

1. Krieg, N.R. and J.G. Holt. 1984. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Vol.1. Williams & Wilkins, Baltimore, MD.
2. Murray, P.R., E.J. Baron, J.H. Jorgensen, M.L. Landry, and M.A. Pfaller. 2007. Manual of Clinical Microbiology. 9th ed. ASM Press, Washington, D.C.
3. Eriquez, L.A. and N.E. Hodinka. 1983. J. Clin. Microbiol. 18:1032-1039.
4. Doern, G.V. and S. A. Morse. 1980. J. Clin. Microbiol. 11:193-195.
5. Boyce, J.M. and E.B. Mitchell, Jr. 1985. J. Clin. Microbiol. 22:731-734.
6. Hoke, C. and N.A. Vedros. 1982. Int. J. Syst. Bacteriol. 32:51-56.
7. Knapp, J.S., P.A. Totten, M.H. Mulks, and B.H. Minshew. 1984. J. Clin. Microbiol. 19:63-67.
8. Doern, G.V. and K.C. Chapin. 1987. Diagn. Microbiol. Infect. Dis. 7:269-272.
9. Dolter, J., L. Bryant, and J.M. Janda. 1990. Diagn. Microbiol. Infect. Dis. 13:265-276.
10. Peterson, E.H. and E.J. Hsu. 1978. J. Food Sci. 43:1853-1856.
11. Guilbault, G.G. 1970. Enzymatic Methods of Analysis. p. 43-51. Pergamon Press, New York, NY.
12. Balows, A., W.J. Hausler, K.L. Herrmann, H.D. Isenberg, and H.J. Shadomy. 1991. Manual of Clinical Microbiology. 5th ed. ASM, Washington, D.C.
13. Barnes, E.H. and J.F. Morris. 1957. J. Bacteriol. 73:100-104.
14. Evangelista, A.T. and H.R. Beilstein. 1993. Cumitech 4A, Laboratory Diagnosis of Gonorrhea. Coordinating ed., C. Abramson. ASM, Washington, D.C.
15. Versalovic, J., K.C. Carroll, G. Funke, J.H. Jorgensen, M.L. Landry, and D.W. Warnock. 2011. Manual of Clinical Microbiology. 10th ed. ASM Press, Washington, D.C.
16. Forbes, B.A., D.F. Sahm, and A.S. Weissfeld. 2007. Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology. 12th ed. Mosby Elsevier, St. Louis, MO.
17. Isenberg, H.D. 2004. Clinical Microbiology Procedures Handbook. 2nd ed. ASM Press, Washington, D.C.
18. Blackmore, T., G. Hererra, S. Shi, P. Bridgewater, L. Wheeler, and J. Byrne. 2005. J. Clin. Microbiol. 43:4189-4190.
19. Blazevic, D.J. and G.M. Ederer. 1975. Principles of Biochemical Tests in Diagnostic Microbiology. John Wiley & Sons, New York, NY.
20. Bodansky, O. and A.L. Latner. 1975. Advances in Clinical Chemistry. Vol. 17, p. 53-61. Academic Press, New York, NY.
21. Dogan, B., S. Asikainen, and H. Jousimies-Somer. 1999. J. Clin. Microbiol. 37:742-747.
22. Nagatsu, T., M. Hino, H. Fuyamada, T. Hayakawa, S. Sakakibara, Y. Nakagawa, and T. Takemoto. 1976. Anal. Biochem. 74:466-476.
23. Norris, J.R. and D.W. Ribbons. 1976. Methods in Microbiology. Vol. 9, p. 1-14. Academic Press, New York, NY.
24. Riou, J.Y. 1977. Ann. Bull. Clin. 35:73-87.
25. Westley, J.R., P.J. Anderson, V.A. Close, B. Halpern, and E.M. Lederberg. 1967. Appl. Microbiol. 15-822-825.
26. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). 2008. Quality Control for Commercial Microbial Identification Systems; Approved Guideline. M50-A. CLSI, Wayne, PA.
27. Saginur, R., B. Clecner, J. Portnoy, and J. Mendelson. 1982. J. Clin. Microbiol. 15:475-477.
28. Takahashi, H., H. Tanaka, H. Inouyr, T. Kuroki, Y. Watanabe, S. Yamai, and H. Watanabe. 2002. J. Clin. Microbiol. 40:3035-3037.
29. Koneman, E.W., S.D. Allen, W.M. Janda, P.C. Schreckenberger, and W.C. Winn. 1997. Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology. 5th ed. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, PA.

CONDITIONNEMENT

REF R8311001, Système RapID NH.....20 tests/kit

Légende des Symboles

REF	Numéro de référence
IVD	Dispositif médical de diagnostic *in vitro*
LAB	Pour l 'usage de laboratoire
	Lire les instructions avant utilisation (IFU = mode d'emploi)
	Limites de température (stockage)
LOT	Code de lot (numéro)
	À utiliser avant le (date de péremption)
EC REP	Représentant autorisé pour l'UE
	Fabricant

RapID™ est une marque commerciale de Thermo Fisher Scientific et ses filiales.
ERIC™ est une marque de Thermo Fisher Scientific et ses filiales.
ATCC® est une marque déposée d'American Type Culture Collection.

12076 Santa Fe Drive
Lenexa, KS 66215, USA
www.remel.com
(800) 255-6730
International: (913) 888-0939

EC REP
Remel Europe Ltd.
Clipper Boulevard West, Crossways
Dartford, Kent, DA2 6PT
UK

Pour tout support technique, contacter le distributeur local.

IFU 8311001, révisé le 2013-09-04

Imprimé aux Etats-Unis

remel

RapID™ NH System

INDIKATIONEN

Das RapID NH System von Remel ist eine qualitative Mikromethode, die konventionelle und chromogene Substrate für die Identifikation von medizinisch bedeutsamen Spezies der *Neisseria*, *Haemophilus* und andere Bakterien, isoliert von anderen menschlichen klinischen Spezimen, verwendet. Eine vollständige Liste der Organismen, auf die das RapID NH System anspricht, enthält die RapID NH Differenzierungstabelle.

Die zur Familie der *Neisseriaceae* gehörenden Organismen werden als Gram-negative Kokken charakterisiert. Sie treten paarweise oder in Massen oder als Gram-negative runde Stäbchen (oft Kugelbak-terien) in Paaren oder kurzen Ketten auf. Die Familie der *Neisseriaceae* besteht aus vier Gattungen: *Neisseria*, *Moraxella*, *Acinetobacter* und *Kingella*.[1] Der natürliche Lebensraum dieser Organismen ist die Schleimhaut, und nur zwei Spezies, *N. gonorrhoeae* und *N. meningitidis*, sind als primär pathogen zu sehen.[2] Die meisten anderen *Neisseriaceae,* isoliert von menschlichen Infektionen, wurden als opportunistisch pathogen klassifiziert. Auf Grund dieser Unterscheidung zwischen *Neisseriaceae* in Bezug auf Infektion des Menschen war das Hauptaugenmerk des klinischen Labors auf die Identifikation und Bestätigung der Gonokokken- und Meningokokken-Proben sowie die Differenzierung dieser Spezies von anderen *Neisseriaceae* gerichtet.

Das RapID NH System ist für die eindeutige Identifikation von *Neisseria gonorrhoeae*, *Neisseria meningitidis* und *Moraxella catarrhalis* und für die Differenzierung dieser Organismen von anderen Spezies der *Neisseria*, *Moraxella*, CDC M-Gruppen und *Kingella*[2-7] konzipiert.

Die Spezies der Gattung *Haemophilus* sind reine Parasiten, die mit dem Atemwegstrakt bei Menschen und Tieren assoziiert werden. *Haemophilus influenzae* ist der ursächliche Erreger verschiedener Infektionen beim Menschen, einschließlich chronischer Atemwegsin-fektionen und Meningitis. Andere Spezies sind in Geschlechtskrank-heiten und Konjunktivitis impliziert. Die Unterscheidung des pathogenen *Haemophilus* innerhalb der Spezies *Haemophilus*, welche die normale Flora bilden, stellt eine wichtige Laborinformation dar. Das RapID NH System identifiziert und differenziert die Spezies *Haemophilus* sowie die biochemischen Typen von *Haemophilus influenzae* und *Haemophilus parainfluenzae*.[2,8]

ZUSAMMENFASSENDE ERKLÄRUNG

Das RapID NH System umfasst RapID NH Behälter, die mehrere Reaktionskammern enthalten, welche in die Außenschicht eines Einmaltabletts aus Plastik eingepasst sind. Die Reaktionskammern enthalten dehydrierte Reaktanden, und das Tablett ermöglicht die simultane Inokulation jeder Öffnung mit einer vorbestimmten Menge des Inokulums. Eine Suspension des Testorganismus in RapID Inokulationsflüssigkeit wird als Inokulum verwendet, was eine Rehydrierung bewirkt und Testreaktionen einleitet. Nach einer Inkubation des Behälters wird jede Testkammer auf Reaktivität untersucht, was sich an der Farbgebung beobachten lässt. In einigen Fällen müssen den Testkammern Reagenzien hinzugefügt werden, um eine Farbveränderung zu bewirken. Das resultierende Muster positiver und negativer Testergebnisse bildet die Grundlage zur Identifikation der isolierten Testorganismen durch Vergleich der Testergebnisse mit in einer Datenbank gespeicherten Reaktions-mustern. Hierzu werden das Electronic RapID Compendium (ERIC™) oder die RapID NH Differenzierungstabelle herangezogen.

TESTPRINZIP

Die für das RapID NH System verwendeten Tests basieren auf der mikrobiellen Zersetzung spezifischer Substrate, die durch verschiedene Indikatorsysteme nachgewiesen werden. Die auftre-tenden Reaktionen sind eine Kombination herkömmlicher Tests und chromogener Tests mit Einzelsubstraten, die in Tabelle 1 beschrie-ben werden.

REAGENZIEN*

RapID Inokulationsflüssigkeit (R8325102, separat erhältlich)
(1 ml/Schlauch)

KCl	6,0 g
$CaCl_2$	0,5 g
Entmineralisiertes Wasser	1000,0 ml

RapID Nitrat A-Reagens (R8309003, separat erhältlich)
(15 ml/ Flsch.)

Sulfanilsäure	8,0 g
Eisessig	280,0 ml
Entmineralisiertes Wasser	720,0 ml

RapID Nitrat B-Reagens (R8309004, separat erhältlich)
(15 ml/Flsch.)

n,n-Dimethyl-1-Naphthylamin	6,0 g
Eisessig	280,0 ml
Entmineralisiertes Wasser	720,0 ml

RapID Spot Indol-Reagens (R8309002, separat erhältlich)
(15 ml/Flsch.)

ρ-Dimethylaminocinnamaldehyd	10,0 g
Salzsäure	100,0 ml
Entmineralisiertes Wasser	900,0 ml

*Nach Bedarf angepasst, um die jeweiligen Leistungsstandards zu erfüllen.

VORSICHTSMASSNAHMEN

Dieses Produkt ist für die Verwendung in der *In-Vitro*-Diagnose vorgesehen und sollte nur von entsprechend geschulten Personen verwendet werden. Es sind Vorsichtsmaßnahmen gegen die von mikrobiologischen Materialien ausgehenden Gefahren zu ergreifen, indem Proben, Container, Medien und Testbehälter nach Gebrauch ordnungsgemäß sterilisiert werden. Die Gebrauchsanweisung sollte sorgfältig gelesen und befolgt werden.

Achtung!

1. RapID Nitrat A-Reagens, RapID Nitrat B-Reagens und RapID Spot Indol-Reagens können Irritationen der Haut, Augen und Atemwege hervorrufen.
2. Für genaue Informationen zur chemischen Zusammensetzung der Reagenzien siehe das Datenblatt für Materialsicherheit.

Tabelle 1. Prinzipien und Komponenten des RapID NH Systems

Kammer-Nr.	Test-Code	Reaktiver Inhaltstoff	Menge	TESTPRINZIP	Bibliographie-Nr.
Prä-Reagenszusätze:					
1	PRO	Prolin ρ-Nitroanilid	0,1 %	Hydrolyse des farblosen Amid-Substrats durch spezifische Enzyme setzt gelbes p-Nitrophenol frei.	1-3, 7-10
2	GGT	γ-Glutamyl ρ-Nitroanilid	0,12 %		
3	ONPG	σ-Nitrophenyl, β, D-Galaktosid	0,25 %	Hydrolyse des farblosen Glykosid-Substrats setzt gelbes o-Nitrophenol frei.	1, 11
4	GLU	Glucose	2,0 %	Verwendung des Zuckersubstrats erzeugt saure Produkte, welche den pH-Wert senken und eine Färbung des Indikators bewirken.	1, 11
5	SUC	Sukrose	2,0 %		
6	EST	Fetthaltiger Säure-Ester	0,5 %	Verwendung des fetthaltigen Säure-Esters erzeugt saure Produkte, welche den pH-Wert senken und eine Färbung des Indikators bewirken.	1
7	RES	Resazurin	0,1 %	Hydrolyse von Resazurin zu Resorufin führt zu Farbveränderung.	8
8	PO_4	ρ-Nitrophenylphosphat	0,1 %	Hydrolyse des farblosen Phosphoesters setzt gelbes p-Nitrophenol frei.	12
9	ORN	Ornithin	0,8 %	Hydrolyse des Ornithins erzeugt basische Produkte, welche den pH-Wert anheben und eine Färbung des Indikators bewirken.	4, 6, 13
10	URE	Harnstoff	0,36 %	Hydrolyse des Harnstoffs erzeugt basische Produkte, welche den pH-Wert anheben und eine Färbung des Indikators bewirken.	6, 13
Post-Reagenszusätze:					
8	NO_2	Nitrit	1,2 %	Reduktion von Nitrit zu nitrogenen Produkten wird nachgewiesen durch die fehlende Fähigkeit, nitrathaltige Reagenzien zu diazotieren.	1, 2, 6
9	NO_3	Nitrat	0,3 %	Reduktion von Nitrat zu Nitrit wird nachgewiesen durch die Fähigkeit, nitrathaltige Reagenzien zu diazotieren.	6, 13, 14
10	IND	Tryptophan	0,16 %	Verwendung der Tryptophan-Resultate für die Bildung von Indol, welches mit RapID Spot Indol-Reagens nachgewiesen wird.	6, 13, 14

LAGERUNG
RapID NH System, Spot Indol sowie Nitrat A- und B-Reagenzien sollten in ihrem Originalbehälter bei 2 bis 8°C bis zur Verwendung gelagert werden. Die Produkte vor der Verwendung auf Zimmer-temperatur erwärmen lassen. Nur die für den Test notwendige Anzahl von Behältern entnehmen. Den Plastikbeutel wieder versiegeln und sofort wieder auf 2 bis 8°C bringen. Die entnommenen Behälter müssen noch am selben Tag verwendet werden. RapID Inokulations-flüssigkeit sollte bis zur Verwendung im Originalbehälter bei Zimmertemperatur (20 bis 25°C) gelagert werden.

PRODUKTSCHÄDEN
Dieses Produkt sollte nicht verwendet werden, falls (1) eine Farbänderung des Reagens eingetreten ist, (2) das Verfallsdatum abgelaufen ist, (3) das Plastiktablett gebrochen oder der Deckel beschädigt ist oder (4) bei anderen Anzeichen von Beschädigung.

PROBENENTNAHME, LAGERUNG UND TRANSPORT
Die Probenentnahme und weitere Handhabung sollte nach den empfohlenen Richtlinien erfolgen.[2,16,17]

LIEFERUMFANG
(1) 20 RapID NH Behälter, (2) 20 Berichtsformulare, (3) 2 Chip-board Inkubationstabletts, (4) Gebrauchsanweisung.

ERFORDERLICHE MATERIALIEN, DIE NICHT IM LIEFER-UMFANG ENTHALTEN SIND
(1) Sterilisationsgerät mit Schlinge, (2) Inokulationsschlinge, Tupfer, Probensammelbehälter, (3) Inkubatoren, alternative Umgebungs-systeme, (4) Zusätzliche Medien, (5) Organismen zur Qualitätskontrolle, (6) Gramfärbungsreagentien, (7) Mikroskop-Objektträger, (8) Oxidase-Reagens, (9) Baumwolltupfer, (10) RapID Inokulationsflüssigkeit-1 ml (R8325102), (11) McFarland Trübungsstandard Nr. 3 oder Äquivalent (R20413), (12) Pipetten, (13) RapID Spot Indol-Reagens (R8309002), (14) RapID Nitrat A-Reagens (R8309003), (15) RapID Nitrat B-Reagens (R8309004), (16) ERIC (Electronic RapID Compendium, R8323600).

VERFAHREN
Für das RapID NH System gibt es zwei alternative Verfahren: das 1-stündige Verfahren und das allgemeine Verfahren.

Das **1-stündige Verfahren** ist nur bei **Verdacht auf Gonokokken**, die aus **urogenitalen Proben** stammen und in **Selektiv-Agaren** isoliert wurden, anzuwenden.

Das **allgemeine Verfahren** sollte für *Neisseriaceae* aus allen anderen Körperstellen verwendet und auf allen anderen Medien isoliert werden. *Haemophilus* und andere Bakterien sollten mit dem allgemeinen Verfahren getestet werden.

Vorbereitung des Inokulums:

1. Die Testorganismen müssen in Reinkultur gezogen und durch Gramfärbung und Oxidasetest geprüft werden, bevor sie im System verwendet werden.

   Hinweis: Die Zellmorphologie und Gramfärbungscharakteristik sollten aufmerksam beobachtet werden, da Kokkenbazil-lenstäbchen im Abstrich Ähnlichkeit mit Diplokokken aufweisen können.

2. Die Testorganismen können aus einer Vielzahl von nicht-selektiven und selektiven Agar-Wachstumsmedien entnommen werden. Die folgenden Medientypen werden empfohlen:

   Nicht-selektive Medien: Schokoladen-Agar; Nähragar; Trypti-scher Soja-Agar mit oder ohne 5% Schafblut.

   Selektive Medien: Thayer-Martin Agar; Martin-Lewis-Agar; New York City-Agar.

   Hinweise:
   - Für das 1-stündige Verfahren können nur selektive Agare verwendet werden.
   - Die Schalen für die Vorbereitung des Inokulums sollten vorzugsweise 18 bis 24 Stunden alt sein. Langsam wachsende isolierte Organismen sollten mit 48 Stunden alten Schalen getestet werden.
   - Wenn andere Medien als die empfohlenen verwendet werden, kann dies die Testergebnisse beeinträchtigen.

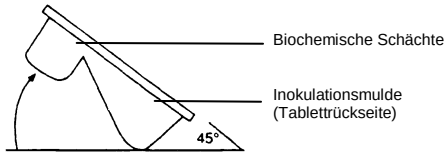
3. Wenn ein Baumwolltupfer oder eine Inokulationsschlinge verwendet werden, ausreichend Wachstum aus der Agar-Schalenkultur in RapID Inokulationsflüssigkeit (1 ml) suspen-dieren, um eine sichtbare Trübung zu erzielen, die in etwa dem McFarland Trübungsstandard Nr. 3 oder Äquivalent entspricht.

   Hinweise:
   - Suspensionen mit deutlich geringerer Trübung als McFarland Standard Nr. 3 führen zu anomalen Reaktionen.
   - Bakterielle Suspensionen, die eine **etwas** stärkere Trübung als der McFarland Standard Nr. 3 aufweisen, haben keine Auswirkung auf das Testergebnis und werden für Bestands-kulturen, Qualitätskontrollstämme sowie für das 1-stündige Verfahren empfohlen.
   - Suspensionen sollten gründlich durchmischt und gegebe-nenfalls verwirbelt werden.
   - Suspensionen sollten innerhalb von 15 Minuten nach Vorbereitung verwendet werden.

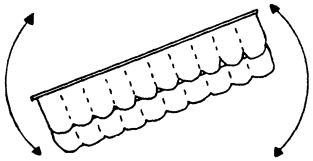
4. Eine Agar-Schale kann auf Reinheit inokuliert werden. Außerdem können weitere notwendige Tests durchgeführt werden, indem eine Schlinge der Testsuspension aus dem Schlauch mit Inokulations-flüssigkeit verwendet wird. Die Schale mindestens 18 bis 24 Stunden bei 35 bis 37°C inkubieren.

Inokulation der RapID NH Behälter:

1. Den Deckel des Behälters nach hinten über den Inokulationsport führen, indem die Lasche mit der Aufschrift „Peel to Inoculate“ (Zur Inokulation abziehen) nach oben und nach links gezogen wird.
2. Mit einer Pipette den **gesamten** Inhalt des Inokulations-flüssigkeitsschlauchs vorsichtig in die obere rechte Ecke des Behälters übertragen. Den Inokulationsport des Behälters wieder versiegeln, indem die Lasche wieder festgedrückt wird.
3. Nach Hinzugabe der Testsuspension und während der Behälter auf einer ebenen Fläche liegt, den Behälter von den Testkammern wegklappen, so dass ein Winkel von ca. 45 Grad entsteht (siehe unten).

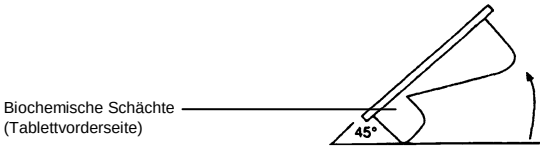


4. Den Behälter in diesem Winkel halten und dabei vorsichtig hin- und herschwenken, damit sich das Inokulum entlang der hinteren Auffangfläche gleichmäßig verteilen kann (siehe Abbildung unten).



5. In horizontaler Position (am besten die Oberkante der Auflage gegen die Unterkante der Reaktionskammern gestützt) den Behälter langsam nach vorne in Richtung der Reaktions-kammern neigen, bis das Inokulum entlang der Auffangfläche in die Reaktionskammern fließt (siehe unten). Damit sollte das Inokulum vollständig aus dem rückwärtigen Bereich des Behälters abfließen.

   Hinweis: Wenn der Behälter zu plötzlich geneigt wird, könnte Luft im Testkammeranschlussstück eingeschlossen werden und den Bewegungsraum der Flüssigkeit einengen.



6. Den Behälter wieder in ebene Position bringen. Gegebenenfalls vorsichtig auf den Behälter klopfen, damit die in die Kammern eingeschlossene Luft entweichen kann.

   Hinweise:
   - Die Testkammern überprüfen. Die Testkammern sollten frei von Luftblasen und gleichmäßig gefüllt sein. Leichte Unterschiede bei der Befüllung der Testkammern sind tolerierbar und haben keinen Einfluss auf die Testergebnisse. Wenn der Behälter sehr ungleichmäßig gefüllt ist, sollte ein neuer Behälter inokuliert und der falsch gefüllte Behälter entsorgt werden.
   - Nach dem Einfüllen der Inokulationsflüssigkeit die Inokulation durchführen, bevor weitere Behälter inokuliert werden.
   - Das Inokulum nicht längere Zeit im rückwärtigen Teil des Behälters belassen, ohne den Vorgang abzuschließen.

Inkubation von RapID NH Behälter:
Bei der Verwendung des **1-Stunden-Verfahrens** die inokulierten Behälter bei 35-37°C in einem Brutschrank (kein CO_2-Brutschrank!) **1 Stunde lang** inkubieren. Bei der Verwendung des **allgemeinen Verfahrens** die inokulierten Behälter bei 35-37°C in einem Brutschrank (kein CO_2-Brutschrank!) **4 Stunden lang** inkubieren. Um die Handhabung zu vereinfachen, können die Behälter in den Chipboard-Inkubationsschalen, die mit dem Set geliefert werden, inkubiert werden.

Auswertung der RapID NH Behälter:
Die RapID NH Behälter enthalten 10 Reaktionskammern, die 12 Testauswertungen ermöglichen und, falls erforderlich, eine dreizehnte Testauswertung (NO_2). Die Testkammern 8 bis 10 sind bifunktional und enthalten zwei separate Tests pro Kammer. Bifunktionale Tests werden zunächst aus-gewertet, bevor ein Reagens hinzugefügt wird; daraus ergibt sich das erste Testergebnis. Anschließend wird dieselbe Kammer nach Hinzugabe des Reagens noch einmal ausgewertet, daraus ergibt sich das zweite Testergebnis. Bei bifunktionalen Testkammern wird der erste Test oberhalb des Balkens, der zweite Test unterhalb des Balkens angegeben. Beim Nitrittest (Kammer 8), der nur für den in Schritt 5 angegebenen Fall erforderlich ist, ist der Test, der ein Reagens erfordert, mit einem Kästchen markiert.

Standorte für den RapID NH Behältertest

Kammer-Nr.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Test Code	PRO	GGT	ONPG	GLU	SUC	EST	RES	PO_4	ORN	URE
								NO_2	NO_3	IND

1. Während der RapID NH Behälter an der Oberkante festgehalten wird,den Deckel über den Reaktionskammern abnehmen, indem die Lasche rechts unten mit der Hand nach links oben gezogen wird.
2. Kammern 1 (PRO) bis 10 (URE) ohne Zugabe von Reagenzien von links nach rechts ablesen und auswerten. Nehmen Sie dazu die Interpretationsanleitung in Tabelle 2 zu Hilfe. Die Testauswertung anhand des Testcodes über dem Balken für bifunktionale Tests in die entsprechenden Kästchen auf dem Berichtsformular eintragen.
3. Die folgenden Reagenzien in die angegebenen Kammern hinzugeben:
   - 2 Tropfen von RapID Nitrat A-Reagens in Kammer 9 (NO_3).
   - 2 Tropfen von RapID Nitrat B-Reagens in Kammer 9 (NO_3).
   - 2 Tropfen von RapID Spot Indol-Reagens in Kammer 10 (IND).

   Hinweis: Es sollte nur RapID Spot Indol-Reagens verwendet werden. Das Indol-Reagens von Kovacs oder Ehrlich erbringt keine zufrieden-stellenden Ergebnisse.
4. Mindestens 1 Minute, jedoch nicht länger als 5 Minuten bis zum Eintritt der Verfärbung warten. Kammern 9 und 10 ablesen und auswerten. Die Auswertungen anhand der Testcodes unterhalb des Balkens für bifunktionale Tests in die entsprechenden Kästchen des Berichtsformulars eintragen.
5. Falls der PRO Test (Kammer 1) der **einzige** positive Test und der isolierte Testorganismus ein Gram-negativer Kokke sein sollte (wahrscheinlich *Neisseria* sp.), in Kammer 8 (PO_4/NO_2) einen Nitrittest (NO_2) durchführen, indem jeweils 2 Tropfen der RapID Nitrat A- und B-Reagenzien hinzugefügt werden. Den Test wie in Tabelle 2 angegeben interpretieren.

   Hinweis: Die Bildung einer negativen Testverfärbung kann sehr langsam vonstatten gehen. Volle fünf Minuten warten, bevor der Test als positiv gewertet wird.
6. Zur Identifikation den Mikrocode auf dem Reportformular aus dem ERIC referenzieren.

RESULTATE UND ZU ERWARTENDER WERTEBEREICH
Die RapID NH Differenzierungstabelle und die Haemophilus Bio-typtabelle enthalten die für das RapID NH System zu erwartenden Resultate. Die Ergebnisse der Differenzierungs-tabelle werden als Reihe positiver Prozentwerte für jeden Systemtest dargestellt. Diese Informa-tionen unterstützen jeden Test statistisch und stellen durch numerische Codierung der digitalen Testergebnisse die Basis für einen probabilistischen Ansatz zur Identifikation der isolierten Testorganismen dar.

Die Identifikation geschieht durch Verwendung einzelner Testauswertungen aus RapID NH Behältern in Verbindung mit anderen Labordaten (z. B. Gramfärbung, Oxidase, Wachstum auf differen-zierten oder selektiven Medien), um ein Muster zu produzieren, das statistisch den bekannten Reaktionen der in die RapID System Datenbank eingetragenen Taxa gleicht. Diese Muster werden mit Hilfe der RapID NH Differenz-ierungstabelle oder durch Ableitung von einem Mikrocode und ERIC verglichen.

Tabelle 2. Interpretation der RapID NH Behältertests*

Kammer-Nr.	Testcode	Reagens	Reaktion		Bemerkungen
			Positiv	Negativ	
Prä-Reagenszusätze:					
1 2 3	PRO GGT ONPG	Keine	Gelb	Klar oder bräunlich	Jegliche Entwicklung einer deutlich gelben Färbung sollte als positiv bewertet werden.
4 5	GLU SUC	Keine	Gelb, goldgelb oder gelb-orange	Rot, rot-orange oder orange	Nur eine deutliche Gelb-, Goldgelb- oder Gelborange-Färbung sollte als positiv bewertet werden. Alle anderen Farben sollten als negativ bewertet werden.
6	EST	Keine	Gelb, goldgelb oder gelb-orange	Rot, rot-orange oder orange	**Hinweis:** An der Oberseite der Kammer kann sich eine rote Schicht bilden. Den Behälter vor der Auswertung vorsichtig schütteln oder mit einem Applikatorstab rühren.
7	RES	Keine	Rosa	Dunkelrot, blau oder violett	Nur die Entwicklung einer deutlichen Rosa-Färbung sollte als positiv bewertet werden. Alle anderen Farben sollten als negativ bewertet werden.
8	PO_4	Keine	Gelb	Klar, bräunlich, strohfarben oder sehr blasses gelb	Nur die Entwicklung einer deutlichen Gelb-Färbung in der gesamten Kammer sollte als positiv bewertet werden.
9 10	ORN URE	Keine	Rot, violett oder dunkelrot	Gelb oder orange	
Post-Reagenszusätze:					
9	NO_3	RapID Nitrat A RapID Nitrat B	Rot oder orange	Gelb	Jegliche Entwicklung einer Rot- oder Orange-Färbung sollte als positiv bewertet werden.
10	IND	RapID Spot Indol	Braun oder schwarz	Orange oder rot	Jegliche Entwicklung einer Braun- oder Schwarz-Färbung sollte als positiv bewertet werden.
8**	NO_2	RapID Nitrat A RapID Nitrat B	Klar, bräunlich oder strohfarben	Rosa oder rot	Jegliche Entwicklung einer Rot- oder Rosa-Färbung sollte als negativ bewertet werden.

***HINWEIS:** Die Behälter sollten durch einen Blick nach unten durch die Reaktionsgefäße vor einem weißen Hintergrund abgelesen werden.

****NO_2 Test:** Den NO_2 Test durchführen, wenn der PRO Test (Kammer 1) der **einzige** positive Test sein sollte und es sich bei dem isolierten Testorganismus um Gram-negative Kokken (wahrscheinlich *Neisseria* sp.) handelt. Die Bildung einer negativen Testverfärbung kann sehr langsam vonstatten gehen. Vor dem Ablesen und Aufzeichnen der NO_2 Reaktionen volle 5 Minuten warten, bis sich eine Verfärbung zeigt.

QUALITÄTSKONTROLLE
Sämtliche Chargen-Nummern des RapID NH Systems wurden unter Verwendung der folgenden Qualitätskontrollorganismen getestet und als akzeptabel befunden. Das Testen von Kontrollorganismen sollte nach den üblichen Qualitätskontrollverfahren für Labore durchgeführt werden. Falls anomale Qualitätskontrollresultate festzustellen sind, sollten die Patientenresultate nicht in den Bericht aufgenommen werden. Tabelle 3 enthält die zu erwartenden Resultate für die ausgewählte Zahl von Testorganismen.

Hinweise:
- Als Qualitätskontrolle von RapID Reagenzien gilt, wenn bei Tests, welche die Hinzugabe von Reagenzien (Kammern 8-10) erfordern, die zu erwartenden Reaktionen eintreten.
- Organismen, die über längere Zeiträume wiederholt auf Agar-Medien übertragen wurden, können zu anomalen Ergebnissen führen.
- Stämme für die Qualitätskontrolle sollten in gefrorenem oder in lyophilem Zustand gelagert werden. Vor der Verwendung sollten Stämme zur Qualitätskontrolle 2 bis 3 Mal vom Speicher- auf ein Agar-Medium übertragen werden, das für den Einsatz mit dem RapID NH System empfohlen wird.
- Rezepturen, Additive und Beimischungen von Kulturmedien können je nach Hersteller und je nach Charge variieren. Als Folge können Kulturmedien die konstitutive enzymatische Aktivität dedizierter Qualitätskontrollstämme beeinflussen. Wenn die Resultate bestimmter Qualitätskontrollstämme von den angegebenen Mustern abweichen, können durch das Auftragen einer Unterkultur einer anderen Charge oder eines anderen Herstellers auf ein Medium oft Diskrepanzen in der Qualitätskontrolle behoben werden.

Tabelle 3. Qualitätskontrolltabelle für die RapID NH Behälter

Organismus	PRO	GGT	ONPG	GLU	SUC	EST	RES	PO_4	ORN	URE	NO_3	IND	NO_2
***Haemophilus influenzae* Biotype I[a] ATCC® 9006**	–	–	–	+	–	–	–	+	+	+	+	+	–
Aggregatibacter aphrophilus ATCC® 7901	–	–	+	+	+	–	V	+	–	–	V	–	–
ODER													
Aggregatibacter aphrophilus ATCC® 49146	V	+	+	+	+	–	V	+	–	–	+	–	V
Oligella urethralis ATCC® 17960	V	+	–	–	–	–	+	–	–	–	–	–	V
***Moraxella catarrhalis*[a] ATCC® 8176**	+	–	–	–	–	+	V	–	V	–	V	–	+

+, positiv; –, negativ; V, variabel

[a] **Die wichtigsten Indikatorstämme** zeigen eine ausreichende Leistung des labilsten Substrates im System sowie eine Reaktivität in einer erheblichen Anzahl der Vertiefungen, entsprechend den Empfehlungen des Clinical and Laboratory Standards Institute für eine straffe Qualitätssicherung.[26]

EINSCHRÄNKUNGEN

1. Die Nutzung des RapID NH Systems und die Auslegung der Erge-bnisse erfordern die Kenntnisse eines qualifizierten Laboranten, der in allgemeinen mikrobiologischen Methoden ausgebildet ist und der seine Ausbildung und Erfahrung sowie Informationen über die Proben und andere relevante Verfahren mit Bedacht einsetzt, bevor er einen Bericht über die mithilfe des RapID NH Systems erhaltene Identifikation erstellt.
2. Die Quelle der Probe, die Oxidase-Reaktion, Gramfärbungseigenschaften sowie das Wachstum auf ausgewählten Agaren sollten bei Verwendung des RapID NH Systems berück-sichtigt werden.
3. Das RapID NH System ist mit Reinkulturen der Testorga-nismen zu verwenden. Die Verwendung gemischter mikrobieller Populationen oder direkte Tests an klinischem Material ohne Kulturen führen zu anomalen Resultaten.
4. Das RapID NH System ist für die Verwendung mit den in der RapID NH Differenzierungstabelle aufgelisteten Taxa bestimmt. Die Verwendung von nicht aufgeführten Organismen kann zu Fehlidentifikationen führen.
5. Die für RapID NH Systemtests zu erwartenden Werte in der Liste können von herkömmlichen Testresultaten oder von Daten aus früheren Berichten abweichen.
6. Die Genauigkeit des RapID NH Systems basiert auf der statistischen Verwendung einer Vielzahl von spezifischen Tests und auf einer einzigartigen, proprietären Datenbank. Die Verwendung eines einzelnen Tests aus dem RapID NH System, um daraus die Identifikation eines isolierten Testorganismus abzuleiten, unterliegt der einem einzelnen Test inhärenten Fehlerquote.
7. Es wurden PRO-negative *N. Gonorrhoeae*-Stämme festgestellt.[18] Beim Referenzvergleich in ERIC führt ein von PRO-negativen *N. Gonorrhoeaea* abstammender Microcode zu einer ungenügenden Differenzierung („Probability Overlap") von Kingella kingae. Bei einer solchen Überschneidung ist die Wahrscheinlichkeit von *N. Gonorrhoeae* als erste Wahl jedoch sehr hoch. Weitere Tests sind notwendig, um die richtige Lösung bei dieser Überschneidung herauszufinden. Der Superoxol-Test (30% Hydrogen Peroxid) kann verwendet werden, um *N. gonorrhoeae* (positiv) und K. kingae (negativ) voneinander zu unterscheiden.[2, 27]
8. Es wurden GGT-negative Stämme von *N. meningitidis* berichtet[28]. Sollte ein entsprechender Verdacht vorliegen, sind zusätzliche Tests, z. B. Säurebildung durch Kohlenhydrat-fermentation (d. h. Maltose und Glukose) erforderlich, um PRO-positive, GGT-negative Isolate eindeutig nachzuweisen, die ansonsten charakter-istisch für *N. meningitidis* oder *N. gonorrhoeae* sind.

LEISTUNGSMERKMALE

Die Leistungsmerkmale des RapID NH Systems wurden durch Labortests an Referenz- und Stammkulturen sowie an frischen klinischen isolierten Organismen aufgestellt.[3,9]

RapID NH Differenzierungstabelle

Organism	PRO	GGT	ONPG	GLU	SUC	EST	RES	PO_4	ORN	URE	NO_3	IND
Aggregatibacter actinomycetemcomitans [a]	46	98	1	95	16	59	39	58	1	0	79	0
Aggregatibacter aphrophilus [b]	2	92	96	98	98	12	90	99	0	0	90	0
Cardiobacterium hominis	12	96	0	79	63	0	93	0	0	0	0	99
Eikenella corrodens	86	0	9	0	0	0	23	0	97	0	93	0
Gardnerella vaginalis	99	0	77	91	44	1	12	5	0	0	0	0
Haemophilus ducreyi	0	0	0	8	0	0	0	79	0	0	96	0
Haemophilus haemolyticus	0	0	0	97	0	0	13	99	0	99	96	90
Haemophilus influenza [c]	4	0	0	98	0	2	9	99	50	50	96	50
Haemophilus parahaemolyticus	0	0	88	98	95	0	12	99	34	99	99	0
Haemophilus parainfluenzae	2	0	93	98	96	0	12	99	50	50	96	50
Haemophilus segnis	0	0	90	52	33	0	24	98	0	0	96	0
Kingella denitrificans	93	0	0	91	0	5	91	0	0	0	94	0
Kingella kingae	19	0	0	76	0	0	57	98	0	0	0	0
Moraxella atlantae	0	22	0	0	0	8	90	96	0	0	0	0
Moraxella catarrhalis	39	0	0	0	0	99	92	0	8	0	63	0
Moraxells lacunata	0	0	0	0	0	0	96	5	0	0	88	0
Moraxella nonliquefaciens	8	0	0	0	0	0	94	0	0	0	96	0
Moraxella osloensis	4	39	0	0	0	0	93	27	0	0	9	0
Neisseria cinerea	99	0	0	0	0	0	68	0	0	0	0	0
Neisseria elongata subsp. *nitroreducens* [d]	79	0	0	0	0	0	91	0	0	0	89	0
Neisseria flavescens	92	9	0	0	0	0	99	96	0	0	0	0
Neisseria gonorrhoeae	98[h]	0	0	87	0	1	4	0	0	0	0	0
Neisseria lactamica	96	0	99	97	2	5	0	18	0	0	0	0
Neisseria meningitidis	93	98[i]	0	96	0	0	62	8	2	0	0	0
Neisseria mucosa	96	2	0	95	92	0	92	1	0	0	95	0
Neisseria sicca/subflava	97	14	0	95	96	2	96	9	0	0	0	0
Neisseria weaveri/elongate [e]	99	0	0	0	0	0	96	0	0	0	0	0
Oligella ureolytica	12	99	0	0	0	0	98	9	0	99	0	0
Oligella urethralis	39	99	0	0	0	0	99	0	0	0	0	0
Pasteurella multocida	0	0	0	97	96	0	46	99	94	0	98	99
Psychrobacter phenylpyruvicus [f]	0	7	0	0	0	18	95	5	31	95	62	0
Suttonella indologenes [g]	7	92	0	96	84	31	98	90	0	0	0	99

[a] Zuvor als *Haemophilus actinomycetemcomitans* bezeichnet.
[b] Zuvor als *Haemophilus aphrophilus* bezeichnet
[c] Einschließlich Biogruppe *aegyptius*.
[d] Zuvor als CDC group M-6 bezeichnet.
[e] Zuvor als CDC group M-5 (*Neisseria weaveri*) bezeichnet.
[f] Zuvor als *Moraxella phenylpyruvica* bezeichnet.
[g] Zuvor als *Kingella indologenes* bezeichnet.
[h] Es wurden PRO-negative Stämme von *Neisseria gonorrhoeae* festgestellt.[18]
[i] Es wurden GGT-negative Stämme von *Neisseria meningitidis* berichtet.[28]

GERMAN

Haemophilus Biotyp-Tabelle[a]

Organismus	IND	URE	ORN
Haemophilus influenzae			
Biotyp I	+	+	+
Biotyp II	+	+	–
Biotyp III und Biogruppe aegyptius[b]	–	+	–
Biotyp IV	–	+	+
Biotyp V	+	–	+
Biotyp VI	–	–	+
Biotyp VII	+	–	–
Biotyp VIII	–	–	–
Haemophilus parainfluenzae			
Biotyp I	–	–	+
Biotyp II	–	+	+
Biotyp III	–	+	–
Biotyp IV	+	+	+
(Biotyp V)[c]	–	–	–
Biotyp VI	+	–	+
Biotyp VII	+	+	–
Biotyp VIII	+	–	–

[a]Aus *Manual of Clinical Microbiology*. 2011. 10th ed.[15]

[b]Analyse der Proteinprofile der äußeren Membran kann zur Differenzierung von *H. influenzae* verwendet warden Biotyp III und Biogruppe aegyptius.

[c]Derzeit ist noch unklar, ob es sich bei diesen Stämmen um *H. parainfluenzae* oder um Stämme von *H. segnis* handelt oder *H. paraphrophilus.*

BIBLIOGRAPHIE

1. Krieg, N.R. and J.G. Holt. 1984. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Vol.1. Williams & Wilkins, Baltimore, MD.
2. Murray, P.R., E.J. Baron, J.H. Jorgensen, M.L. Landry, and M.A. Pfaller. 2007. Manual of Clinical Microbiology. 9th ed. ASM Press, Washington, D.C.
3. Eriquez, L.A. and N.E. Hodinka. 1983. J. Clin. Microbiol. 18:1032-1039.
4. Doern, G.V. and S. A. Morse. 1980. J. Clin. Microbiol. 11:193-195.
5. Boyce, J.M. and E.B. Mitchell, Jr. 1985. J. Clin. Microbiol. 22:731-734.
6. Hoke, C. and N.A. Vedros. 1982. Int. J. Syst. Bacteriol. 32:51-56.
7. Knapp, J.S., P.A. Totten, M.H. Mulks, and B.H. Minshew. 1984. J. Clin. Microbiol. 19:63-67.
8. Doern, G.V. and K.C. Chapin. 1987. Diagn. Microbiol. Infect. Dis. 7:269-272.
9. Dolter, J., L. Bryant, and J.M. Janda. 1990. Diagn. Microbiol. Infect. Dis. 13:265-276.
10. Peterson, E.H. and E.J. Hsu. 1978. J. Food Sci. 43:1853-1856.
11. Guilbault, G.G. 1970. Enzymatic Methods of Analysis. p. 43-51. Pergamon Press, New York, NY.
12. Balows, A., W.J. Hausler, K.L. Herrmann, H.D. Isenberg, and H.J. Shadomy. 1991. Manual of Clinical Microbiology. 5th ed. ASM, Washington, D.C.
13. Barnes, E.H. and J.F. Morris. 1957. J. Bacteriol. 73:100-104.
14. Evangelista, A.T. and H.R. Beilstein. 1993. Cumitech 4A, Laboratory Diagnosis of Gonorrhea. Coordinating ed., C. Abramson. ASM, Washington, D.C.
15. Versalovic, J., K.C. Carroll, G. Funke, J.H. Jorgensen, M.L. Landry, and D.W. Warnock. 2011. Manual of Clinical Microbiology. 10th ed. ASM Press, Washington, D.C.
16. Forbes, B.A., D.F. Sahm, and A.S. Weissfeld. 2007. Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology. 12th ed. Mosby Elsevier, St. Louis, MO.
17. Isenberg, H.D. 2004. Clinical Microbiology Procedures Handbook. 2nd ed. ASM Press, Washington, D.C.
18. Blackmore, T., G. Hererra, S. Shi, P. Bridgewater, L. Wheeler, and J. Byrne. 2005. J. Clin. Microbiol. 43:4189-4190.
19. Blazevic, D.J. and G.M. Ederer. 1975. Principles of Biochemical Tests in Diagnostic Microbiology. John Wiley & Sons, New York, NY.
20. Bodansky, O. and A.L. Latner. 1975. Advances in Clinical Chemistry. Vol. 17, p. 53-61. Academic Press, New York, NY.
21. Dogan, B., S. Asikainen, and H. Jousimies-Somer. 1999. J. Clin. Microbiol. 37:742-747.
22. Nagatsu, T., M. Hino, H. Fuyamada, T. Hayakawa, S. Sakakibara, Y. Nakagawa, and T. Takemoto. 1976. Anal. Biochem. 74:466-476.
23. Norris, J.R. and D.W. Ribbons. 1976. Methods in Microbiology. Vol. 9, p. 1-14. Academic Press, New York, NY.
24. Riou, J.Y. 1977. Ann. Bull. Clin. 35:73-87.
25. Westley, J.R., P.J. Anderson, V.A. Close, B. Halpern, and E.M. Lederberg. 1967. Appl. Microbiol. 15-822-825.
26. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). 2008. Quality Control for Commercial Microbial Identification Systems; Approved Guideline. M50-A. CLSI, Wayne, PA.
27. Saginur, R., B. Clecner, J. Portnoy, and J. Mendelson. 1982. J. Clin. Microbiol. 15:475-477.
28. Takahashi, H., H. Tanaka, H. Inouyr, T. Kuroki, Y. Watanabe, S. Yamai, and H. Watanabe. 2002. J. Clin. Microbiol. 40:3035-3037.
29. Koneman, E.W., S.D. Allen, W.M. Janda, P.C. Schreckenberger, and W.C. Winn. 1997. Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology. 5th ed. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, PA.

PACKUNGSEINHEIT

REF R8311001, RapID NH System.....20 Tests/Kit

Verwendete Symbole

REF	Katalognummer
IVD	In-vitro-Diagnostikum
LAB	Für Laborgebrauch
	Gebrauchsanweisung beachten
	Temperaturbeschränkungen (Lagerungstemp.)
LOT	Chargencode (Losnummer)
	Verfallsdatum
EC REP	Autorisierte Vertretung für U-Länder
	Hersteller

RapID™ ist ein Warenzeichen von Thermo Fisher Scientific und deren Tochtergesellschaften.
ERIC™ ist ein Warenzeichen von Thermo Fisher Scientific und deren Tochtergesellschaften.
ATCC® ist ein eingetragenes Warenzeichen von American Type Culture Collection.

12076 Santa Fe Drive
Lenexa, KS 66215, USA
www.remel.com
(800) 255-6730
International: (913) 888-0939

EC REP

Remel Europe Ltd.
Clipper Boulevard West, Crossways
Dartford, Kent, DA2 6PT
UK

CE

Bei technischen Fragen wenden Sie sich bitte an Ihren zuständigen Vertriebspartner.

IFU 8311001, Revidierte Fassung vom 2013-09-04 Printed in U.S.A.

remel

RapID™ NH System

USO PREVISTO

RapID NH System Remel è un micrometodo qualitativo che utilizza substrati convenzionali e cromogenici per l'identificazione di specie di rilevanza clinica di *Neisseria, Haemophilus* e di altri batteri isolati nella patologia umana. L'elenco completo dei microrganismi identificabili con RapID NH System è riportato nella Tabella Differenziale RapID NH.

Gli organismi appartenenti alla famiglia delle *Neisseriaceae* sono caratterizzati da cocchi Gram-negativi presenti in coppie o masse oppure da aste piene Gram-negative (spesso coccobacillari) in coppie o catene brevi. La famiglia delle *Neisseriaceae* è costituita da quattro generi: *Neisseria*, *Moraxella*, *Acinetobacter* e *Kingella*.[1] L'habitat naturale di questi organismi sono le membrane mucose e due sole specie, *N. gonorrhoeae* e *N. meningitidis*, sono considerate patogene primarie.[2] Quasi tutte le altre *Neisseriaceae* isolate da infezioni umane sono state classificate come patogene opportuniste. Per via della distinzione fra le *Neisseriaceae* relative all'infezione umana, l'interesse principale del laboratorio clinico è stato quello di identificare e confermare gli isolati gonococcici e meningococcici e la differenziazione di tali specie dalle altre *Neisseriaceae*.

RapID NH System è stato progettato allo scopo di identificare definitivamente la *N. gonorrhoeae*, *N. meningitidis* e la *Moraxella catarrhalis* e per differenziare tali organismi da altre specie di *Neisseria*, *Moraxella*, gruppi M CDC e *Kingella*.[2-7]

Le specie del genere *Haemophilus* sono parassiti obbligati, associati al tratto respiratorio dell'uomo e degli animali. *Haemophilus influenzae* è l'agente eziologico di una varietà di infezioni umane, comprese le infezioni respiratorie croniche e la meningite. Altre specie sono implicate in malattie veneree e nella congiuntivite. La differenziazione dell'*Haemophilus* patogeno dalle specie di *Haemophilus* che costituiscono la normal flora è una importante informazione di laboratorio. Il sistema RapID™ NH identifica e differenzia le specie di *Haemophilus* e tipicizza in modo biochimico l'*Haemophilus influenzae* e l'*Haemophilus parainfluenzae*.[2,8]

DESCRIZIONE DEL PRODOTTO

Il sistema RapID NH comprende dei pannelli RapID NH, costituiti da una serie di pozzetti di reazione ricavati sul bordo di una galleria monouso in plastica. I pozzetti di reazione contengono dei reagenti disidratati, mentre la galleria permette l'inoculo contemporaneo di ciascun pozzetto con una quantità predefinita di sospensione batterica. I microrganismi da identificare vengono sospesi in RapID Inoculation Fluid: è l'inoculo stesso che consente la contemporanea reidratazione e attivazione delle reazioni biochimiche. Dopo l'incubazione, il pannello viene esaminato valutando lo sviluppo di colore che si è prodotto all'interno dei pozzetti. In alcuni pozzetti è necessario aggiungere un reagente per ottenere un cambiamento di colore. Le modèle résultant de scores positifs et négatifs au test sert de base à l'identification de l'isolat du test en comparant les résultats obtenus à des modèles de réactivité enregistrés dans une base de données, via l'utilisation d'Electronic RapID Compendium (ERIC™) ou grâce au tableau différentiel RapID NH.

PRINCIPIO

I test utilizzati da RapID NH System si basano sulla degradazione microbiologica di specifici substrati, evidenziata da un sistema di vari indicatori. Le reazioni impiegate sono una combinazione di analisi convenzionali e cromogeniche a substrato singolo, come descritto di seguito nella tabella 1.

REAGENTI*

RapID Inoculation Fluid (R8325102, fornito a parte) (provetta da 1 mlL)

KCl	6,0 g
$CaCl_2$	0,5 g
Acqua demineralizzata	1000,0 ml

RapID Nitrate A Reagent (R8309003, fornito a parte) (flacone da 15 mL)

Acido sulfanilico	8,0 g
Acido acetico glaciale	280,0 ml
Acqua demineralizzata	720,0 ml

RapID Nitrate B Reagent (R8309004, fornito a parte) (flacone da 15 mL)

n,n-Dimetil-1-naftilammina	6,0 g
Acido acetico glaciale	280,0 ml
Acqua demineralizzata	720,0 ml

RapID Spot Indole Reagent (R8309002, fornito a parte) (flacone da 15 mL)

ρ-Dimetilamminocinamaldeide	10,0 g
Acido cloridrico	100,0 ml
Acqua demineralizzata	900,0 ml

*La formulazione è regolata in base ai criteri di performance richiesti.

PRECAUZIONI

Il prodotto è indicato esclusivamente per Uso diagnostico *in vitro* e deve essere utilizzato solo da personale competente ed esperto. Si raccomanda di prendere le dovute precauzioni contro eventuali rischi microbiologici sterilizzando opportunamente dopo l'uso campioni, contenitori, strumenti e pannelli di analisi. Leggere con attenzione le istruzioni contenute in questo documento e seguirle scrupolosamente.

Attenzione!

1. RapID Nitrate A Reagent, RapID Nitrate B Reagent e RapID Spot Indole Reagent possono causare irritazione alla cute, agli occhi e al sistema respiratorio.
2. Consultare la Scheda di Sicurezza del prodotto per informazioni dettagliate sui reagenti chimici.

Tabella 1. Principio e componenti di RapID NH System

N. pozzetto	Codice reazione	Reagente contenuto nel pozzetto	Concentrazione % del reagente	Principio del test	Riferimento bibliografico
Prima dell'aggiunta del reagente:					
1	PRO	Prolina ρ-nitroanilide	0,1%	L'idrolisi del substrato di amido incolore da parte di enzimi specifici rilascia para-nitrofenolo giallo.	1-3, 7-10
2	GGT	γ-glutamil ρ-nitroanilide	0,12%		
3	ONPG	σ-nitrofenil, β, D-galattoside	0,25%	L'idrolisi del substrato di glicosidi incolore rilascia orto-nitrofenolo giallo.	1, 11
4	GLU	Glucosio	2,0%	L'uso del substrato di zucchero produce prodotti acidi che abbassano il pH e modificano l'indicatore.	1, 11
5	SUC	Saccarosio	2,0%		
6	EST	Estere di acidi grassi	0,5%	L'idrolisi dell'estere di acidi grassi produce prodotti acidi che abbassano il pH e modificano l'indicatore.	1
7	RES	Resazurina	0,1%	L'idrolisi della resazurina in resorufina provoca un cambiamento di colore.	8
8	PO_4	ρ-nitrofenil fosfato	0,1%	L'idrolisi dei fosfoesteri privi di colore rilascia para-nitrofenolo giallo.	12
9	ORN	Ornitina	0,8%	Dall'idrolisi dell'ornitina derivano prodotti basici che determinano un innalzamento del pH e un cambiamento di colore dell'indicatore.	4, 6, 13
10	URE	Urea	0,36%	Dall'idrolisi dell'urea derivano prodotti basici che determinano un innalzamento del pH e un cambiamento di colore dell'indicatore.	6, 13
Dopo l'aggiunta del reagente:					
8	NO_2	Nitrito	1,2%	La riduzione del nitrito in prodotti azotati viene rivelata dall'assenza della possibilità di de-azotare i reagenti al nitrato.	1, 2, 6
9	NO_3	Nitrato	0,3%	La riduzione del nitrato in nitrito viene rivelata dalla possibilità di de-azotare i reagenti al nitrato.	6, 13, 14
10	IND	Triptofano	0,16%	L'utilizzo del triptofano porta alla formazione di indolo rilevato da RapID Spot Indole Reagent.	6, 13, 14

ITALIAN

CONDIZIONI DI CONSERVAZIONE
RapID NH System e i reagenti Spot Indole nonché Nitrate A e Nitrate B devono essere conservati nei contenitori originali fino all'uso, a una temperatura compresa tra 2 e 8°C. Tutti i prodotti devono essere portati a temperatura ambiente prima dell'uso. Rimuovere solo il numero di pannelli necessari alle analisi. Richiudere nuovamente la busta di plastica con la propria chiusura sigillante e rimettere immediatamente a 2-8°C. Utilizzare i pannelli il giorno stesso in cui vengono rimossi dal luogo di conservazione. RapID Inoculation Fluid deve essere conservato nel contenitore originale a temperatura ambiente (20-25°C) fino al momento dell'utilizzo.

DETERIORAMENTO DEL PRODOTTO
Non utilizzare il prodotto se: (1) il colore del reagente si è modificato, (2) è trascorsa la data di scadenza del prodotto, (3) la galleria in plastica è danneggiata o la copertura adesiva non è integra o (4) se sono presenti altri segni di deterioramento.

RACCOLTA DEI CAMPIONI, CONSERVAZIONE E TRASPORTO
Prelevare e trattare i campioni seguendo le linee guida raccomandate.[2,16,17]

MATERIALE FORNITO
(1) 20 pannelli RapID NH, (2) 20 schede di lavoro, (3) 2 vassoi in cartone per l'incubazione, (4) istruzioni per l'uso.

MATERIALE NECESSARIO MA NON FORNITO
(1) Dispositivo di sterilizzazione per anse, (2) ansa per inoculo, tampone, contenitori per rifiuti contaminati, (3) termostato o sistemi per la formazione di atmosfere modificate, (4) terreni di coltura supplementari, (5) microrganismi per il controllo qualità, (6) reagenti per la colorazione di Gram, (7) vetrini per microscopio, (8) reagenti per ossidasi, (9) bastoncini in cotone idrofilo, (10) RapID Inoculation Fluid, 1 ml (R8325102), (11) Standard di Torbidità McFarland N. 3 o equivalente (R20413), (12) pipette, (13) RapID Spot Indole Reagent (R8309002), (14) RapID Nitrate A Reagent (R8309003), (15) RapID Nitrate B Reagent (R8309004), (16) ERIC (Electronic RapID Compendium, R8323600).

PROCEDIMENTO
Esistono due procedimenti alternativi per RapID NH System: procedimento di un'ora e procedimento generale.

Il **procedimento di un'ora** è applicabile solo ai **gonococchi sospetti** ottenuti da **campioni urogenitali** isolati su **agar selettivi**.

Il **procedimento generale** è destinato all'uso per *Neisseriaceae* provenienti da altre parti del corpo e isolate su tutti gli altri terreni di coltura. Esaminare il batterio *Haemophilus* e gli altri batteri con il procedimento generale.

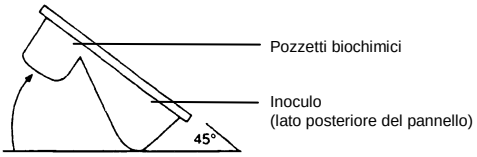
Preparazione dell'inoculo:
1. I microrganismi da sottoporre ad analisi devono provenire da colture pure e devono essere prima stati valutati con la colorazione di Gram e il test dell'ossidasi.

   Nota: osservare attentamente la morfologia cellulare e la colorazione di Gram dal momento che, nello striscio, le aste coccobacillari possono somigliare a dei diplococchi.
2. I microrganismi da sottoporre ad analisi possono essere prelevati da diversi terreni di coltura, selettivi o non selettivi. Si raccomandano i seguenti tipi di terreno di coltura.
   Terreni non selettivi: Agar al cioccolato; agar nutriente; Tryptic Soy Agar con o senza il 5% di sangue di montone.
   Terreni di coltura selettivi: Thayer-Martin Agar; Martin-Lewis Agar e New York City Agar.

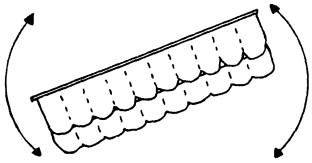
   Nota:
   - Quando si usa il procedimento di un'ora è necessario impiegare solo agar selettivi.
   - Le piastre utilizzate nella preparazione dell'inoculo devono essere state seminate preferibilmente da 18-24 ore. I batteri a crescita lenta potranno essere esaminati con piastre di 48 ore.
   - L'uso di terreni diversi da quelli raccomandati potrebbe pregiudicare la performance del test.
3. Con un bastoncino in cotone idrofilo o con un'ansa, prelevare i microrganismi dalla piastra e sospenderli in RapID Inoculation Fluid (1 mL) fino ad ottenere una torbidità almeno equivalente allo standard McFarland N. 3.

   Nota:
   - Torbidità notevolmente inferiori allo standard McFarland N. 3 potrebbero dar luogo a reazioni aberranti.
   - Torbidità **leggermente** superiori allo standard McFarland N. 3 non pregiudicano la performance del test e sono raccomandate per colture in stock, per ceppi di controllo e per il procedimento di un'ora.
   - La sospensione deve essere agitata accuratamente, se necessario su vortex.
   - Utilizzare le sospensioni entro 15 minuti dalla preparazione.
4. Seminare su agar un'ansata della sospensione per verificare la purezza del ceppo e per eventuali ulteriori controlli. Incubare la piastra per almeno 18-24 ore a 35-37°C.

Inoculo dei pannelli RapID NH:
1. Sollevare la copertura adesiva che ricopre la parte del pannello destinata a ricevere l'inoculo (angolo superiore destro), sollevando verso sinistra la linguetta contrassegnata da "Peel to inoculate".
2. Con l'aiuto di una pipetta, trasferire delicatamente tutto il contenuto della provetta con la sospensione batterica (Inoculation Fluid) nell'angolo superiore destro del pannello. Sigillare nuovamente la copertura del pannello riposizionando e facendo nuovamente aderire la linguetta.
3. Dopo aver aggiunto la sospensione da analizzare, mantenendo il pannello su una superficie piana, inclinare lo stesso con un angolo di circa 45 gradi, sollevando dal piano d'appoggio il lato su cui si trovano i pozzetti contenenti i reagenti (come indicato nella figura).

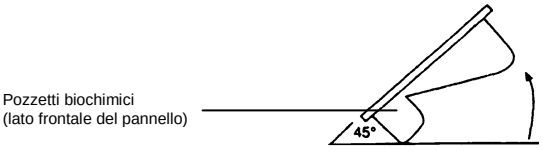


4. Mantenendo il pannello inclinato, farlo oscillare da un lato all'altro (dal lato sinistro a quello destro e viceversa) per distribuire uniformemente l'inoculo nella serie di cavità presenti nella parte posteriore del pannello stesso, come mostrato di seguito.



5. Rimettere il pannello in posizione orizzontale. Tenendo aderente al piano d'appoggio il lato su cui si trovano i pozzetti che contengono i reagenti, inclinare lentamente il pannello, sollevando questa volta il lato lungo il quale è distribuito l'inoculo (come mostrato di seguito). Questa operazione consente il passaggio di tutto l'inoculo dal canaletto d'inoculo (parte posteriore del pannello) ai pozzetti con le reazioni biochimiche.

   Nota: se il pannello viene inclinato troppo velocemente, si possono formare delle bolle d'aria che impediscono all'inoculo di scorrere liberamente nei pozzetti.



6. Riportare il pannello in posizione orizzontale. Se necessario, battere delicatamente il pannello sul piano di lavoro per eliminare eventuali bolle d'aria presenti nei pozzetti.

   Nota:
   - Esaminare i pozzetti. Questi devono risultare privi di bolle d'aria e riempiti uniformemente. Leggere differenze di riempimento tra i pozzetti sono accettabili e non pregiudicano la performance del test. Se i livelli di riempimento sono notevolmente diversi, ripetere il test utilizzando un nuovo pannello.
   - Completare le operazioni di inoculo di ciascun pannello con Inoculation Fluid, prima di procedere con altri pannelli.
   - Non lasciare l'inoculo nella parte posteriore del pannello per lungo tempo, prima di aver eseguito l'intera procedura.

Incubazione dei pannelli RapID NH:
Se si segue la **procedura da 1 ora**, incubare i pannelli inoculati a 35 e 37°C in un termostato a secco per **1 ora**. Se si segue la **procedura generale**, incubare i pannelli inoculati a 35 e 37°C in un termostato a secco per **4 ore**. Per una migliore manipolazione, i pannelli possono essere posti a incubare direttamente nei vassoi in cartone forniti con il kit.

Risultati dei pannelli RapID NH:
I pannelli RapID NH contengono 10 pozzetti che forniscono 12 risultati di analisi e, se necessario, un tredicesimo risultato (NO_2). I pozzetti dal n. 8 al n. 10 sono bi-funzionali: ciascun pozzetto contiene i reagenti per due reazioni biochimiche differenti. I pozzetti bi-funzionali vengono letti prima e dopo l'aggiunta del reagente, fornendo così due risultati distinti. I pozzetti bi-funzionali sono indicati con il primo test sopra la barra e il secondo test sotto la barra. Il test del nitrito (pozzetto 8), che è necessario solo come indicato di

seguito al seguente punto 5, è contraddistinto da un riquadro tracciato attorno al test che necessita del reagente.

Posizione dei test nel pannello RapID NH

N. pozzetto	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Codice reazione	PRO	GGT	ONPG	GLU	SUC	EST	RES	PO_4	ORN	URE
								NO_2	NO_3	IND

1. Tenendo saldamente il pannello RapID NH sul piano di lavoro, sollevare la copertura adesiva posta sopra i pozzetti tirando verso sinistra l'apposita linguetta.
2. Senza aggiungere reagenti, leggere i pozzetti dal n. 1 (PRO) al n. 10 (URE) procedendo da sinistra a destra, facendo riferimento alla Tabella 2 per i criteri di lettura. Registrare sulla scheda di lavoro i valori ottenuti nelle relative caselle utilizzando, per le analisi bi-funzionali, il codice della reazione indicato sopra la barra.
3. Aggiungere i seguenti reagenti ai pozzetti indicati.
   - Aggiungere due gocce di RapID Nitrate A Reagent nel pozzetto 9 (NO3).
   - Aggiungere due gocce di RapID Nitrate B Reagent nel pozzetto 9 (NO3).
   - Aggiungere due gocce di RapID Spot Indole Reagent nel pozzetto 10 (IND).

   Nota: utilizzare solo RapID Spot Indole Reagent. I reagenti per l'indolo di Kovacs o Ehrlich non forniscono risultati soddisfacenti.
4. Attendere per lo sviluppo del colore da un minimo di 1 minuto a un massimo di 5 minuti. Leggere i pozzetti n. 9 e n. 10. Registrare i valori nelle relative caselle presenti nel foglio di lavoro utilizzando, per le reazioni bi-funzionali, i codici delle reazioni che si trovano sotto la barra.
5. Se il test PRO (pozzetto 1) è l'**unico** test positivo e l'isolato del test è un cocco Gram-negativo (sospetto sp. *Neisseria*), eseguire un test del nitrito (NO_2) nel pozzetto 8 (PO_4/NO_2) aggiungendo 2 gocce ciascuno dei reagenti RapID Nitrate A e RapID Nitrate B. Interpretare il test come indicato nella Tabella 2.

   Nota: lo sviluppo del colore del risultato negativo può essere lento. Lasciar trascorrere completamente cinque minuti prima di dichiararne la positività.
6. Per l'identificazione, confrontare il microcodice ottenuto nel foglio di lavoro con quello riportato in nel database elettronico ERIC.

RISULTATI E VALORI ATTESI

La tabella differenziale RapID NH e quella dei biotipi di *Haemophilus* illustrano i risultati attesi per RapID NH System. Le tabelle mostrano le percentuali di positività delle diverse reazioni biochimiche. Queste informazioni rappresentano il supporto statistico per l'utilizzo di ciascun test, e costituiscono le basi per l'approccio probabilistico all'identificazione del microrganismo, la quale è, nello specifico, ottenuta mediante un sistema numerico di codifica dei risultati dei test.

L'identificazione definitiva è effettuata utilizzando i risultati dei singoli test ottenuti con i pannelli RapID NH, unitamente ad altre informazioni di laboratorio (ad esempio, colorazione di Gram, ossidasi, crescita su terreni di coltura differenziali o selettivi). Vengono in tal modo definite delle combinazioni che sono statisticamente riconducibili alle reattività già note per i taxa compresi nel database di RapID System. L'identificazione del microrganismo è pertanto definita confrontando la combinazione ottenuta con quelle riportate nella Tabella Differenziale RapID NH oppure ricavando un microcodice numerico e consultando ERIC.

Tabella 2. Interpretazione dei risultati dei test del pannello RapID NH*

N. pozzetto	Codice reazione	Reagente da aggiungere nel pozzetto	Reazione		Osservazioni
			Positiva	Negativa	
Prima dell'aggiunta del reagente:					
1 2 3	PRO GGT ONPG	Nessuno	Giallo	Trasparente o beige	Qualunque sviluppo di un colore giallo ben distinto dovrà essere letto come positivo.
4 5	GLU SUC	Nessuno	Giallo, oro o giallo-arancio	Rosso, rosso-arancio o arancione	Leggere come positivo solo un colore distintamente giallo, oro o giallo-arancio. Tutti gli altri colori vanno letti come negativi.
6	EST	Nessuno	Giallo, oro o giallo-arancio	Rosso, rosso-arancio o arancione	**Nota:** sulla sommità del pozzetto può formarsi uno strato rosso. Scuotere delicatamente il pannello o agitare con un bastoncino applicatore prima di leggere il risultato.
7	RES	Nessuno	Rosa	Porpora, blu o violetto	Solo lo sviluppo di un colore marcatamente rosa dovrà essere letto come positivo. Tutti gli altri colori vanno letti come negativi.
8	PO_4	Nessuno	Giallo	Nessuna colorazione, beige, paglia o giallo molto pallido	Solo lo sviluppo di un colore marcatamente giallo per l'intero pozzetto dovrà essere letto come positivo.
9 10	ORN URE	Nessuno	Rosso, violetto o porpora	Giallo o arancione	
Dopo l'aggiunta del reagente:					
9	NO_3	RapID Nitrate A RapID Nitrate B	Rosso o arancione	Giallo	Qualunque sviluppo di un colore rosso o arancione dovrà essere letto come positivo.
10	IND	RapID Spot Indole	Marrone o nero	Arancione o rosso	Qualunque sviluppo di un colore marrone o nero dovrà essere letto come positivo.
8**	NO_2	RapID Nitrate A RapID Nitrate B	Trasparente, beige o paglia	Rosa o rosso	Qualunque sviluppo di un colore rosso o rosa dovrà essere letto come negativo.

***NOTA:** i pannelli devono essere letti osservando le reazioni dei pozzetti dall'alto e contro uno sfondo bianco.

****Test dell'NO_2:** eseguire il test dell'NO_2 quando il test PRO (pozzetto 1) è l'**unico** test positivo e l'isolato del test è un cocco Gram-negativo (sospetto sp. *Neisseria*). Lo sviluppo del colore del risultato negativo può essere lento. Lasciar trascorrere completamente cinque minuti per lo sviluppo del colore, prima di leggere e registrare le reazioni dell'NO_2.

CONTROLLO QUALITÀ

Ogni lotto di RapID NH System è stato sottoposto a controllo qualità con i microrganismi di seguito indicati, e con risultati ritenuti soddisfacenti. I test di controllo qualità devono essere eseguiti in accordo con le procedure di controllo qualità definite dal laboratorio. Se i test di controllo qualità forniscono risultati aberranti, i risultati ottenuti con i campioni in esame non devono essere refertati. La Tabella 3 contiene i risultati attesi valutando una serie significativa di microrganismi.

Nota:

- Il controllo qualità di RapID Reagent va effettuato in base ai risultati attesi con le analisi che richiedono l'aggiunta di questi reagenti (pozzetti dal n. 8 al n. 10).
- I microrganismi che siano stati coltivati su terreni agarizzati per periodi prolungati e con ripetuti passaggi colturali, possono produrre risultati aberranti.
- Congelare o liofilizzare i ceppi per il controllo qualità. Prima dell'uso, trasferire 2-3 volte i ceppi per il controllo qualità dal mezzo di conservazione al terreno di coltura agarizzato raccomandato per l'uso con RapID NH System.
- Le formulazioni, i supplementi e gli ingredienti del terreno di coltura variano da produttore a produttore e anche da lotto a lotto. Di conseguenza il terreno di coltura può influenzare l'attività enzimatica costitutiva dei ceppi di controllo qualità. Se il ceppo per il controllo qualità fornisce risultati diversi da quelli attesi, spesso le discrepanze riscontrate possono essere risolte con una sottocoltura proveniente da un lotto diverso o proveniente da un altro produttore.

ITALIAN

Tabella 3. Controllo qualità dei pannelli RapID NH

Microrganismo	PRO	GGT	ONPG	GLU	SUC	EST	RES	PO_4	ORN	URE	NO_3	IND	NO_2
***Haemophilus influenzae*, biotipo I[a] ATCC® 9006**	–	–	–	+	–	–	–	+	+	+	+	+	–
Aggregatibacter aphrophilus ATCC® 7901	–	–	+	+	+	–	V	+	–	–	V	–	–
Aggregatibacter aphrophilus ATCC® 49146	V	+	+	+	+	–	V	+	–	–	+	–	V
Oligella urethralis ATCC® 17960	V	+	–	–	–	–	+	–	–	–	–	–	V
***Moraxella catarrhalis*[a] ATCC® 8176**	+	–	–	–	–	+	V	–	V	–	V	–	+

+, positivo; –, negativo; V, variabile

[a]**I principali ceppi indicatori** dimostrano prestazioni accettabili del substrato più labile del sistema e reattività in un numero significativo di pozzetti, in conformità con le raccomandazioni del Clinical and Laboratory Standards Institute per l'ottimizzazione del controllo qualità.[26]

O

LIMITAZIONI

1. L'uso di RapID NH System e l'interpretazione dei risultati richiedono l'esperienza di personale competente e con adeguata preparazione nelle tecniche generali di microbiologia, in grado di valutare in modo appropriato sia i risultati del test, sia le informazioni relative al campione nonché i risultati di altri test, prima di refertare l'identificazione ottenuta con RapID NH System.
2. Valutare l'origine del campione, la reazione all'ossidasi, la colorazione di Gram e la crescita su terreni selettivi quando si usa RapID NH System.
3. I microrganismi da sottoporre a test con RapID NH System devono provenire da colture pure. L'utilizzo del prodotto con popolazioni batteriche miste o l'analisi diretta di materiale clinico non proveniente da coltura può fornire risultati aberranti.
4. RapID NH System è raccomandato per l'utilizzo con i taxa elencati nella Tabella Differenziale RapID NH. L'utilizzo del prodotto con microrganismi diversi da quelli elencati può portare a identificazioni errate.
5. I risultati attesi per le reazioni biochimiche su cui si basa RapID NH System possono differire da altri convenzionali o da informazioni precedenti.
6. L'accuratezza di RapID NH è basata sull'uso statistico di una molteplice serie di test appositamente studiata e su un database di proprietà esclusiva. L'uso di qualsiasi test del pannello preso singolarmente e ottenuto con RapID NH System per l'identificazione di un determinato microrganismo è soggetto al margine di errore relativo al singolo test preso come tale.
7. Sono stati riscontrati ceppi di *N. gonorrhoeae* negativi alla PRO.[18] Se si fa riferimento al database ERIC, un microcodice derivato da una *N. gonorrhoeae* negativa alla PRO determina una possibile sovrapposizione con *Kingella kingae*. Nonostante tale sovrapposizione, la probabilità che si tratti di *N. gonorrhoeae* rimane comunque l'eventualità di scelta. Ulteriori analisi permetteranno di chiarire la sovrapposizione. Per differenziare la *N. gonorrhoeae* (positiva) e la *K. kingae* (negativa) è possibile utilizzare il test del superossido (30% di perossido di idrogeno).[2,27]
8. Sono stati riscontrati ceppi di *Neisseria meningitidis*[28] negativi alla GGT. Se si sospetta la presenza di tale specie, è necessario eseguire un ulteriore test, ad esempio acidificazione di carboidrati (cioè, maltosio e glucosio), per identificare in modo definitivo isolati negativi alla GGT, positivi alla PRO, che sono una diversa caratteristica di *N. meningitidis* o *N. gonorrhoeae.*

PERFORMANCE

La performance di RapID NH System è stata valutata con microrganismi isolati da campioni clinici e mediante colture in stock e isolati patologici freschi.[3,9]

Tabella Differenziale RapID NH

Organism	PRO	GGT	ONPG	GLU	SUC	EST	RES	PO_4	ORN	URE	NO_3	IND
Aggregatibacter actinomycetemcomitans [a]	46	98	1	95	16	59	39	58	1	0	79	0
Aggregatibacter aphrophilus [b]	2	92	96	98	98	12	90	99	0	0	90	0
Cardiobacterium hominis	12	96	0	79	63	0	93	0	0	0	0	99
Eikenella corrodens	86	0	9	0	0	0	23	0	97	0	93	0
Gardnerella vaginalis	99	0	77	91	44	1	12	5	0	0	0	0
Haemophilus ducreyi	0	0	0	8	0	0	0	79	0	0	96	0
Haemophilus haemolyticus	0	0	0	97	0	0	13	99	0	99	96	90
Haemophilus influenza [c]	4	0	0	98	0	2	9	99	50	50	96	50
Haemophilus parahaemolyticus	0	0	88	98	95	0	12	99	34	99	99	0
Haemophilus parainfluenzae	2	0	93	98	96	0	12	99	50	50	96	50
Haemophilus segnis	0	0	90	52	33	0	24	98	0	0	96	0
Kingella denitrificans	93	0	0	91	0	5	91	0	0	0	94	0
Kingella kingae	19	0	0	76	0	0	57	98	0	0	0	0
Moraxella atlantae	0	22	0	0	0	8	90	96	0	0	0	0
Moraxella catarrhalis	39	0	0	0	0	99	92	0	8	0	63	0
Moraxells lacunata	0	0	0	0	0	0	96	5	0	0	88	0
Moraxella nonliquefaciens	8	0	0	0	0	0	94	0	0	0	96	0
Moraxella osloensis	4	39	0	0	0	0	93	27	0	0	9	0
Neisseria cinerea	99	0	0	0	0	0	68	0	0	0	0	0
Neisseria elongata subsp. *nitroreducens* [d]	79	0	0	0	0	0	91	0	0	0	89	0
Neisseria flavescens	92	9	0	0	0	0	99	96	0	0	0	0
Neisseria gonorrhoeae	98[h]	0	0	87	0	1	4	0	0	0	0	0
Neisseria lactamica	96	0	99	97	2	5	0	18	0	0	0	0
Neisseria meningitidis	93	98[i]	0	96	0	0	62	8	2	0	0	0
Neisseria mucosa	96	2	0	95	92	0	92	1	0	0	95	0
Neisseria sicca/subflava	97	14	0	95	96	2	96	9	0	0	0	0
Neisseria weaveri/elongate [e]	99	0	0	0	0	0	96	0	0	0	0	0
Oligella ureolytica	12	99	0	0	0	0	98	9	0	99	0	0
Oligella urethralis	39	99	0	0	0	0	99	0	0	0	0	0
Pasteurella multocida	0	0	0	97	96	0	46	99	94	0	98	99
Psychrobacter phenylpyruvicus [f]	0	7	0	0	0	18	95	5	31	95	62	0
Suttonella indologenes [g]	7	92	0	96	84	31	98	90	0	0	0	99

[a]Precedentemente denominato *Haemophilus actinomycetemcomitans*.
[b]Precedentemente denominato *Haemophilus aphrophilus.*
[c]Includes biogroup *aegyptius*.
[d]Precedentemente denominato CDC group M-6.
[e]Precedentemente denominato CDC group M-5 (*Neisseria weaveri*).
[f]Precedentemente denominato *Moraxella phenylpyruvica.*
[g]Precedentemente denominato *Kingella indologenes.*
[h]Sono strati riscontrati ceppi di *Neisseria gonorrhoeae* negativi alla PRO.[18]
[i]Sono stati riscontrati ceppi di *Neisseria meningitidis* negativi alla GGT.[28]

ITALIAN

Tabella dei biotipi di Haemophilus[a]

Microrganismo	IND	URE	ORN
Haemophilus influenzae			
Biotipo I	+	+	+
Biotipo II	+	+	–
Biotipo III e biogruppo aegyptius[b]	–	+	–
Biotipo IV	–	+	+
Biotipo V	+	–	+
Biotipo VI	–	–	+
Biotipo VII	+	–	–
Biotipo VIII	–	–	–
Haemophilus parainfluenzae			
Biotipo I	–	–	+
Biotipo II	–	+	+
Biotipo III	–	+	–
Biotipo IV	+	+	+
(Biotipo V)[c]	–	–	–
Biotipo VI	+	–	+
Biotype VII	+	+	–
Biotipo VIII	+	–	–

[a]Adattato da *Manual of Clinical Microbiology*. 2011. 10th ed.[15]

[b]È possibile usare le analisi dei profili delle proteine delle membrane esterne per differenziare *H. influenzae* biotipo III e biogruppo aegyptius.

[c]Attualmente non è chiaro se questi ceppi sono *H. parainfluenzae* o ceppi di *H. segnis* o di *H. paraphrophilus.*

BIBLIOGRAFIA

1. Krieg, N.R. and J.G. Holt. 1984. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Vol.1. Williams & Wilkins, Baltimore, MD.
2. Murray, P.R., E.J. Baron, J.H. Jorgensen, M.L. Landry, and M.A. Pfaller. 2007. Manual of Clinical Microbiology. 9th ed. ASM Press, Washington, D.C.
3. Eriquez, L.A. and N.E. Hodinka. 1983. J. Clin. Microbiol. 18:1032-1039.
4. Doern, G.V. and S. A. Morse. 1980. J. Clin. Microbiol. 11:193-195.
5. Boyce, J.M. and E.B. Mitchell, Jr. 1985. J. Clin. Microbiol. 22:731-734.
6. Hoke, C. and N.A. Vedros. 1982. Int. J. Syst. Bacteriol. 32:51-56.
7. Knapp, J.S., P.A. Totten, M.H. Mulks, and B.H. Minshew. 1984. J. Clin. Microbiol. 19:63-67.
8. Doern, G.V. and K.C. Chapin. 1987. Diagn. Microbiol. Infect. Dis. 7:269-272.
9. Dolter, J., L. Bryant, and J.M. Janda. 1990. Diagn. Microbiol. Infect. Dis. 13:265-276.
10. Peterson, E.H. and E.J. Hsu. 1978. J. Food Sci. 43:1853-1856.
11. Guilbault, G.G. 1970. Enzymatic Methods of Analysis. p. 43-51. Pergamon Press, New York, NY.
12. Balows, A., W.J. Hausler, K.L. Herrmann, H.D. Isenberg, and H.J. Shadomy. 1991. Manual of Clinical Microbiology. 5th ed. ASM, Washington, D.C.
13. Barnes, E.H. and J.F. Morris. 1957. J. Bacteriol. 73:100-104.
14. Evangelista, A.T. and H.R. Beilstein. 1993. Cumitech 4A, Laboratory Diagnosis of Gonorrhea. Coordinating ed., C. Abramson. ASM, Washington, D.C.
15. Versalovic, J., K.C. Carroll, G. Funke, J.H. Jorgensen, M.L. Landry, and D.W. Warnock. 2011. Manual of Clinical Microbiology. 10th ed. ASM Press, Washington, D.C.
16. Forbes, B.A., D.F. Sahm, and A.S. Weissfeld. 2007. Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology. 12th ed. Mosby Elsevier, St. Louis, MO.
17. Isenberg, H.D. 2004. Clinical Microbiology Procedures Handbook. 2nd ed. ASM Press, Washington, D.C.
18. Blackmore, T., G. Hererra, S. Shi, P. Bridgewater, L. Wheeler, and J. Byrne. 2005. J. Clin. Microbiol. 43:4189-4190.
19. Blazevic, D.J. and G.M. Ederer. 1975. Principles of Biochemical Tests in Diagnostic Microbiology. John Wiley & Sons, New York, NY.
20. Bodansky, O. and A.L. Latner. 1975. Advances in Clinical Chemistry. Vol. 17, p. 53-61. Academic Press, New York, NY.
21. Dogan, B., S. Asikainen, and H. Jousimies-Somer. 1999. J. Clin. Microbiol. 37:742-747.
22. Nagatsu, T., M. Hino, H. Fuyamada, T. Hayakawa, S. Sakakibara, Y. Nakagawa, and T. Takemoto. 1976. Anal. Biochem. 74:466-476.
23. Norris, J.R. and D.W. Ribbons. 1976. Methods in Microbiology. Vol. 9, p. 1-14. Academic Press, New York, NY.
24. Riou, J.Y. 1977. Ann. Bull. Clin. 35:73-87.
25. Westley, J.R., P.J. Anderson, V.A. Close, B. Halpern, and E.M. Lederberg. 1967. Appl. Microbiol. 15-822-825.
26. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). 2008. Quality Control for Commercial Microbial Identification Systems; Approved Guideline. M50-A. CLSI, Wayne, PA.
27. Saginur, R., B. Clecner, J. Portnoy, and J. Mendelson. 1982. J. Clin. Microbiol. 15:475-477.
28. Takahashi, H., H. Tanaka, H. Inouyr, T. Kuroki, Y. Watanabe, S. Yamai, and H. Watanabe. 2002. J. Clin. Microbiol. 40:3035-3037.
29. Koneman, E.W., S.D. Allen, W.M. Janda, P.C. Schreckenberger, and W.C. Winn. 1997. Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology. 5th ed. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, PA.

CONFEZIONE

REF R8311001, RapID NH System..... Kit per 20 test

Legenda dei simboli

REF	Numero di codice
IVD	Dispositivo medico per uso diagnostico *in vitro*
LAB	Per uso del laboratorio
	Consultare le istruzioni per l'uso (IFU)
	Limitazioni per la temperatura (Temp. di conservazione)
LOT	Codice lotto (Numero di lotto)
	Da utilizzare entro (Data di scadenza)
EC REP	Rappresentante autorizzato per l'Europa
	Fabbricante

RapID™ è un marchio di Thermo Fisher Scientific e delle sue sussidiarie.
ERIC™ è un marchio di Thermo Fisher Scientific e delle sue sussidiarie.
ATCC® è un marchio registrato di American Type Culture Collection.

12076 Santa Fe Drive
Lenexa, KS 66215, USA
www.remel.com
(800) 255-6730
International: (913) 888-0939

EC REP
Remel Europe Ltd.
Clipper Boulevard West, Crossways
Dartford, Kent, DA2 6PT
UK

Per l'assistenza tecnica, rivolgersi al distributore di zona.

IFU 8311001, Data ultima revisione: 2013-09-04 Stampato negli U.S.A.

remel

Sistema RapID™ NH

USO PREVISTO

El sistema RapID NH de Remel es un micrométodo cualitativo que utiliza sustratos convencionales y cromogénicos para la identificación de especies médicamente importantes de *Neisseria, Haemophilus* y otras bacterias aisladas en muestras clínicas humanas. La relación completa de microorganismos detectados por el sistema RapID NH se incluye en el diagrama diferencial RapID NH.

Los microorganismos que pertenecen a la familia *Neisseriaceae* se identifican como cocos gramnegativos en forma de parejas o cúmulos, o como bacilos redondeados gramnegativos (a menudo, cocobacilos) en parejas o cadenas cortas. La familia *Neisseriaceae* incluye cuatro géneros: *Neisseria*, *Moraxella*, *Acinetobacter* y *Kingella.*[1] El hábitat natural de estos microorganismos es la membrana mucosa y sólo dos especies, *N. gonorrhoeae* y *N. meningitidis*, se consideran patógenos primarios.[2] La mayoría de *Neisseriaceae* aisladas en infecciones humanas se han clasificado como patógenos oportunistas. Debido a esta distinción entre *Neisseriaceae* en relación con la infección en el hombre, el interés primario del laboratorio clínico se ha centrado en la identificación y confirmación de los aislamientos gonocócicos y meningocócicos, y en la diferenciación de ambas especies del resto de *Neisseriaceae*.

El sistema RapID NH se ha diseñado para identificar definitivamente *Neisseria gonorrhoeae*, *Neisseria meningitidis* y *Moraxella catarrhalis*, y diferenciar estos microorganismos de otras especies de *Neisseria*, *Moraxella*, grupos CDC M y *Kingella.*[2-7]

Las especies del género *Haemophilus* son parásitos obligados que se asocian con las vías respiratorias del hombre y de los animales. *Haemophilus influenzae* es el agente etiológico de varias infecciones en el hombre, incluidas la infección respiratoria crónica y la meningitis. Otras especies están implicadas en la enfermedad venérea y conjuntivitis. La diferenciación entre las especies patógenas de *Haemophilus* y las que componen la flora normal es una información importante para el laboratorio. El sistema RapID NH identificará y diferenciará las especies de *Haemophilus*, así como un tipo bioquímico de *Haemophilus influenzae* y *Haemophilus parainfluenzae.*[2,8]

RESUMEN Y EXPLICACIÓN

El sistema RapID NH está formado por paneles RapID NH que contienen varios pocillos de reacción moldeados en la periferia de una bandeja de plástico desechable. Los pocillos de reacción contienen reactantes deshidratados y la bandeja permite la inoculación simultánea de cada uno de ellos con una cantidad predeterminada de inóculo. Como inóculo que rehidrata e inicia las reacciones de prueba se usa una suspensión del microorganismo de prueba en el líquido de inoculación RapID. Después de incubar el panel, se examina la reactividad de cada pocillo de prueba observando el desarrollo de un color. En algunos casos, se deben añadir reactivos a los pocillos para obtener el cambio de color. La combinazione dei valori positivi e negativi ottenuta dal test viene utilizzata per identificare il microrganismo, e viene confrontata con gli schemi di reattività contenuti in un database utilizzando l'Electronic RapID Compendium (ERIC™) o la Tabella Differenziale RapID NH.

PRINCIPIO

Las pruebas usadas en el sistema RapID NH se basan en la degradación microbiana de sustratos específicos detectados por varios sistemas indicadores. Los reactivos utilizados son una combinación de pruebas convencionales y pruebas cromogénicas de monosustrato, y se describen más adelante en la Tabla 1.

REACTIVOS*

Líquido de inoculación RapID (R8325102, se suministra por separado)
(1 ml/tubo)

KCl	6,0	g
$CaCl_2$	0,5	g
Agua desmineralizada	1000,0	ml

Reactivo RapID Nitrate A (R8309003, se suministra por separado)
(15 ml/frasco)

Ácido sulfanílico	8,0	g
Ácido acético glacial	280,0	ml
Agua desmineralizada	720,0	ml

Reactivo RapID Nitrate B (R8309004, se suministra por separado)
(15 ml/frasco)

n-n-dimetil-1-naftilamina	6,0	g
Ácido acético glacial	280,0	ml
Agua desmineralizada	720,0	ml

Reactivo RapID Spot Indole (R8309002, se suministra por separado)
(15 ml/frasco)

p-dimetilaminocinamaldehído	10,0	g
Ácido clorhídrico	100,0	ml
Agua desmineralizada	900,0	ml

*Ajustado según necesidades para cumplir los estándares de funcionamiento.

PRECAUCIONES

Este producto es para uso diagnóstico *in vitro* y debe ser utilizado por personal con la formación adecuada. Se tomarán precauciones frente a los riesgos microbiológicos, esterilizando correctamente las muestras, envases, medios y paneles de prueba después de su uso. Se deben leer y seguir atentamente las instrucciones.

¡Precaución!

1. Los reactivos RapID Nitrate A, RapID Nitrate B y RapID Spot Indole pueden provocar irritación en la piel, ojos y aparato respiratorio.
2. Consulte una información más detallada en la Hoja de Datos de Seguridad del Material sobre productos químicos.

CONSERVACIÓN

El sistema RapID NH, el reactivo RapID Spot Indole y los reactivos Nitrate A y B deben conservarse en sus envases originales a 2-8°C hasta su uso. Deuqe que el producto se estabilice a temperatura ambiente antes de su uso. Extraiga sólo el número de paneles necesario para el estudio. Vuelva a sellar la bolsa de plástico y devolverla rápidamente a su alma-cenamiento a 2-8°C. Los paneles deben usarse el mismo día que se extraen de su almacenamiento. El líquido de inoculación RapID debe conservarse en su envase original a temperatura ambiente (20-25°C) hasta su uso.

Tabla 1. Principios y componentes del sistema RapID NH

Nº de pocillo	Código de la prueba	Ingredientes de los reactivos	Cantidad	Principio	Bibliografía
Antes de la adición del reactivo:					
1	PRO	Prolina ρ-nitroanilida	0,1 %	La hidrólisis del sustrato amida incoloro por enzimas específicas libera p-nitrofenol amarillo.	1-3, 7-10
2	GGT	γ-glutamil ρ-nitroanilida	0,12 %		
3	ONPG	σ-nitrofenil, β,D-galactósido	0,25 %	La hidrólisis del sustrato glicósido incoloro libera o-nitrofenol amarillo.	1, 11
4	GLU	Glucosa	2,0 %	La utilización del azúcar como sustrato da lugar a productos ácidos que bajan el pH e inducen el cambio del indicador.	1, 11
5	SUC	Sacarosa	2,0 %		
6	EST	Éster de ácido graso	0,5 %	La hidrólisis del ácido graso da lugar a productos ácidos que bajan el pH e inducen el cambio del indicador.	1
7	RES	Resazurina	0,1 %	La hidrólisis de resazurina a resorufina da lugar a un cambio de color.	8
8	PO_4	ρnitrofenil fosfato	0,1 %	La hidrólisis del fosfoéster incoloro libera p-nitrofenol amarillo.	12
9	ORN	Ornitina	0,8 %	La hidrólisis de ornitina da lugar a productos alcalinos que aumentan el pH y cambian el indicador.	4, 6, 13
10	URE	Urea	0,36 %	La hidrólisis de la urea da lugar a productos alcalinos que aumentan el pH y cambian el indicador.	6, 13
Después de añadir el reactivo:					
8	NO_2	Nitritos	1,2 %	La reducción de nitrito a productos nitrogenados se detecta por la ausencia de la capacidad de los reactivos diazótizo nitrato.	1, 2, 6
9	NO_3	Nitrato	0,3 %	La reducción de nitrato a nitrito se detecta por la capacidad de los reactivos diazótizo nitrato.	6, 13, 14
10	IND	Triptófano	0,16 %	La utilización de triptófano da lugar a la formación de indol, que se detecta con el reactivo RapID Spot Indole.	6, 13, 14

SPANISH

DETERIORO DEL PRODUCTO
Este producto no se debe usar si (1) el color de los reactivos ha cambiado, (2) se ha superado la fecha de caducidad, (3) la bandeja de plástico está rota o la tapa está dañada, o (4) hay otros signos de deterioro.

OBTENCIÓN, CONSERVACIÓN Y TRANSPORTE DE LA MUESTRA
Las muestras se deben usar y manipular de acuerdo con las recomendaciones siguientes.[2,16,17]

MATERIALES SUMINISTRADOS
(1) 20 paneles RapID NH, (2) 20 formularios de resultados, (3) 2 bandejas de incubación de cartón prensado, (4) Instrucciones de uso.

MATERIALES NECESARIOS PERO NO SUMINISTRADOS
(1) Dispositivo de esterilización en asa, (2) Asa de inoculación, torunda, envases para las muestras, (3) Incubadoras, sistemas ambientales alternativos, (4) Medio complementario, (5) Microorganismos para control de calidad, (6) Reactivos para la tinción de Gram, (7) Portamuestras para el microscopio, (8) Reactivo oxidasa, (9) Torundas de algodón, (10) Líquido de inoculación RapID (R8325102), (11) Estándar de turbidez McFarland del Nº 3 o equivalente (R20413), (12) Pipetas, (13) Reactivo RapID Spot Indole (R8309002), (14) Reactivo RapID Nitrate A (R8309003), (15) Reactivo RapID Nitrate B (R8309004), (16) ERIC (Compendio electrónico RapID, R8323600).

PROCEDIMIENTO
Hay dos procedimientos alternativos para utilizar el sistema RapID NH: procedimiento de 1 hora y procedimiento general.

El **procedimiento de 1 hora** sólo es aplicable **en caso de sospecha de gonococos** obtenidos de **muestras urogenitales** aisladas en **agar selectivo.**

El **procedimiento general** se debe usar en caso de *Neisseriaceae* procedentes de otras localizaciones corporales y aislados en todos los demás medios. *Haemophilus* y otras bacterias se deben estudiar con el procedimiento general.

Preparación del inóculo:

1. Los microorganismos en estudio deben cultivarse en un medio de cultivo puro y examinarse con la tinción de la `rueba de oxidasa antes de usar el sistema.

   Nota: La morfología celular y las características de la tinción de Gram deben analizarse detenidamente, ya que los cocobacilos pueden ser parecidos a los diplococos en los frotis.

2. Los microorganismos estudiados pueden extraerse en varios medios de crecimiento selectivos y no selectivos con agar. Se recomienda usar los siguientes medios:

   Medios no selectivos: Agar achocolatado, agar con nutriente; agar con tripsina de soja con o sin sangre de oveja al 5%.

   Medio selectivo: Agar de Thayer-Martin, agar de Martín-Lewis, agar de New York City.

   Notas:
   - Si se usa el procedimiento de 1 hora sólo se pueden usar los medios de agar selectivos.
   - Las placas usadas para la preparación del inóculo deben tener preferentemente 18 a 24 horas. Los aislamientos de crecimiento lento se pueden estudiar con placas de 48 horas.
   - El uso de medios distintos de los recomendados puede afectar al funcionamiento de la prueba.

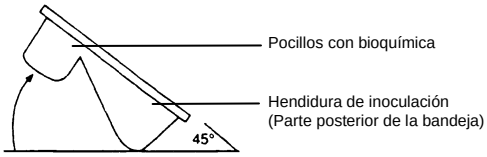
3. Con una torunda de algodón o un asa de inoculación, suspender suficiente crecimiento del cultivo de la placa de agar en el líquido de inoculación RapID (1 ml) para conseguir una turbidez visual aproximadamente igual a la del estándar de turbidez Nº 3 de McFarland o equivalente.

   Notas:
   - Las suspensiones con una turbidez significativamente menor que el estándar Nº 3 de McFarland provocarán reacciones anómalas.
   - Las suspensiones bacterianas que son ligeramente más turbias que el estándar Nº 3 de McFarland no afectarán al funcionamiento de la prueba y se recomiendan para los cultivos madre y para el procedimiento de 1 hora.
   - Las suspensiones se deben mezclar bien, con vórtice si es preciso.
   - Las suspensiones se deben usar en los 15 minutos siguientes a su preparación.

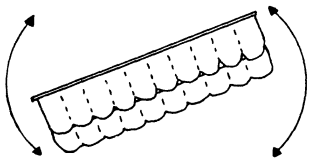
4. Puede inocularse otra placa de agar para comprobar la pureza y cualquier otro estudio adicional que pueda ser necesario, usando un asa llena de la suspensión de prueba del tubo de líquido de inoculación. Incubar la placa al menos durante 18 a 24 horas a una temperatura de 35 a 37ºC.

Inoculación de los paneles RapID NH:

1. Abrir la tapa del panel sobre el acceso de inoculación, tirando de la pestaña marcada “Peel to Inoculate” hacia arriba y hacia la izquierda.
2. Con una pipeta, transfiera suavemente el contenido de **todo** el tubo de líquido de inoculación en la esquina superior derecha del panel. Vuelva a sellar el acceso de inoculación del panel, presionando la pestaña de nuevo en su lugar.
3. Después de añadir la suspensión de prueba, y mientras se mantiene el panel sobre una superficie nivelada, incline el panel hacia el lado contrario a los pocillos de prueba, aproximadamente en un ángulo de 45° (véase más adelante).

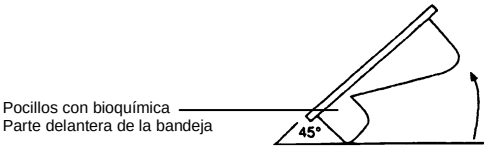


4. Mientras se inclina, debe mecerse suavemente el panel de lado a lado para distribuir homogéneamente el inóculo a lo largo de las depresiones posteriores, como se muestra en la imagen.



5. Mientras se mantiene en posición horizontal nivelada (que se consigue mejor usando la parte superior de la mesa de trabajo contra el fondo de los pocillos), debe inclinarse lentamente el panel hacia delante, hacia los pocillos de reacción, hasta que el inóculo fluya a lo largo de las depresiones de los pocillos de reacción (véase más adelante). De esta manera, se evacuará todo el inóculo de la parte posterior del panel.

   Nota: Si se inclina demasiado el panel, puede quedar aire atrapado en la unión de los pocillos de prueba y limitar el movimiento del líquido.



6. Vuelva el panel a su posición nivelada. Si es necesario, dé unos golpes suaves con el panel sobre la mesa para eliminar el aire atrapado en los pocillos.

   Notas:
   - Examine los pocillos de prueba. Éstos deben aparecer sin burbujas y uniformemente llenos. Se aceptan ligeras irregularidades en el llenado de los pocillos de prueba que no afectarán a su funcionamiento. Si el panel está claramente mal llenado, se debe inocular un nuevo panel y desecharse el erróneo.
   - Complete la inoculación de cada panel que reciba el líquido de inoculación antes de inocular nuevos paneles.
   - No deje que el inóculo repose en la parte posterior del panel durante mucho tiempo sin completar el procedimiento.

Incubación de los paneles RapID NH:
Cuando se utilice el **procedimiento de 1 hora**, incubar los paneles inoculados a una temperatura de 35 a 37 C en una incubadora sin CO_2 durante **1 hora**. Cuando se utilice el **procedimiento general**, incubar los paneles inoculados a una temperatura de 35 a 37 C en una incubadora sin CO_2 durante **4 horas**. Para facilitar la manipulación, los paneles se pueden incubar en las bandejas de incubación de cartón que se incluyen en el estuche.

Puntuación de los paneles RapID NH:
Los paneles RapID NH contienen 10 pocillos de reacción que permiten obtener 12 puntuaciones de la prueba y, si se precisa, una decimotercera (NO_2). Los pocillos de prueba 8 a 10 son bifuncionales y contienen dos pruebas independientes en el mismo pocillo. Las pruebas bifuncionales se puntúan primero, antes de añadir el reactivo que da el primer resultado de la prueba, y luego se vuelve a puntuar el mismo pocillo después de añadir el reactivo que da el segundo resultado de la prueba. Los pocillos de pruebas bifuncionales están marcados con la primera prueba por encima de la barra y la segunda, por debajo. La prueba de nitritos (pocillo 8), que sólo es necesaria según se indica a continuación en el paso 5, está marcada con un recuadro que rodea la prueba que requiere el reactivo.

SPANISH

Situación en el panel de prueba RapID NH

Nº de pocillo	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Código de la prueba	PRO	GGT	ONPG	GLU	SUC	EST	RES	PO_4	ORN	URE
								NO_2	NO_3	IND

1. Mientras sujeta firmemente el panel RapID NH en la mesa, retire la tapa que cubre los pocillos de reacción tirando de la pestaña inferior derecha hacia arriba y hacia la izquierda.
2. Sin añadir reactivos, lea y puntúe los pocillos 1 (PRO) a 10 (URE) de izquierda a derecha, usando la guía de interpretación que se incluye en la Tabla 2. Registre las puntuaciones de las pruebas en los recuadros adecuados del formulario de resultados, usando el código de prueba que se encuentra encima de la barra para pruebas bifuncionales.
3. Añada los reactivos siguientes a los pocillos que se indican:
   - Añada dos gotas del reactivo RapID Nitrate A al pocillo 9 (NO_3).
   - Añada dos gotas del reactivo RapID Nitrate B al pocillo 9 (NO_3).
   - Añada dos gotas del reactivo RapID Spot Indole al pocillo 10 (IND).

   Nota: Sólo se debe usar el reactivo RapID Spot Indole. Los reactivos de Kovac o de Ehrlich no consiguen resultados satisfactorios.
4. Espere un minuto como mínimo o 5 minutos como máximo para el desarrollo del color. Lea y puntúe los pocillos 9 y 10. Anote las puntuaciones en los recuadros adecuados del formulario de resultados, usando los códigos de prueba que hay debajo de la barra para pruebas bifuncionales.
5. Si la prueba PRO (pocillo 1) es la **única** prueba positiva y el aislamiento en estudio es un coco gramnegativo (sospecha de especies de *Neisseria*), realice una prueba de nitritos (NO_2) en el pocillo 8 (PO_4/NO_2) añadiendo 2 gotas de cada uno de los reactivos Nitrate A y B de RapID. Interprete la prueba según se indica en la Tabla 2.

   Nota: El desarrollo del color en una prueba negativa puede ser lento. Dejar transcurrir cinco minutos antes de puntuar como positivo.
6. Consulte el microcódigo obtenido en el formulario de resultados del Compendio de Códigos RapID NH o ERIC.

RESULTADOS E INTERVALO DE VALORES ESPERADOS

En el Diagrama diferencial RapID NH y el Diagrama de biotipos de *Haemophilus* se exponen los resultados esperados del sistema RapID NH. Los resultados de los diagramas diferenciales se expresan como una serie de porcentajes positivos para cada prueba del sistema. Esta información respalda estadísticamente el uso de cada prueba y proporciona la base del abordaje probabilístico para identificar el aislamiento de prueba, mediante un código numérico de los resultados de la prueba digital.

Las identificaciones se hacen con las puntuaciones individuales de la prueba en los paneles RapID NH junto con otra información de laboratorio (como tinción de Gram, oxidasa o crecimiento en un medio diferencial o selectivo) para producir un patrón que imite estadísticamente la reactividad conocida de los géneros registrados en la base de datos RapID. Estos patrones se comparan mediante el diagrama diferencial RapID NH o a partir de un microcódigo y el uso ERIC.

Tabla 2. Interpretación de las pruebas del panel RapID NH*

Nº de pocillo	Código de la prueba	Reactivo	Reacción		Comentario
			Positivo	Negativo	
Antes de la adición del reactivo:					
1 2 3	PRO GGT ONPG	Ninguno	Amarillo	Transparente o tostado	El desarrollo de un color que no sea amarillo se debe puntuar como positivo.
4 5	GLU SUC	Ninguno	Amarillo, dorado o amarillo-naranja	Rojo, rojo-naranja o naranja	Sólo se puntuará como positivo un color amarillo, dorado o amarillo-naranja definidos. Todos los demás colores se puntuarán como negativos.
6	EST	Ninguno	Amarillo, dorado o amarillo-naranja	Rojo, rojo-naranja o naranja	**Nota:** Puede formarse una capa roja en la parte superior del pocillo. Sgite suavemente el panel o agítelo con una varilla aplicadora antes de puntuar.
7	RES	Ninguno	Rosa	Púrpura, azul o violeta	Sólo se debe puntuar como positivo el desarrollo de un color rosa intenso. Todos los demás colores se puntuarán como negativos.
8	PO_4	Ninguno	Amarillo	Transparente, tostado, pajizo o amarillo muy pálido	Sólo se debe puntuar como positivo el desarrollo de un color amarillo intenso en todo el pocillo.
9 10	ORN URE	Ninguno	Rojo, violeta o púrpura	Amarillo o naranja	
Después de añadir el reactivo:					
9	NO_3	RapID Nitrate A RapID Nitrate B	Rojo o naranja	Amarillo	El desarrollo de cualquier color rojo o naranja se debe puntuar como positivo.
10	IND	RapID Spot Indole	Marrón o negro	Naranja o rojo	El desarrollo de cualquier color marrón o negro se debe puntuar como positivo.
8**	NO_2	RapID Nitrate A RapID Nitrate B	Transparente, tostado o pajizo	Rosa o rojo	El desarrollo de un color rosa o rojo se debe puntuar como negativo.

***NOTA:** Los paneles se deben leer mirando los pocillos de reacción hacia abajo contra un fondo blanco.

****Prueba NO_2:** Realizar la prueba NO_2 cuando la prueba PRO (pocillo 1) es la **única** prueba positiva y el aislamiento en estudio es un coco grampositivo (sospecha de *Neisseria sp.*) El desarrollo del color en una prueba negativa puede ser lento. Dejar transcurrir 5 minutos para el desarrollo del color antes de leer y anotar las reacciones de NO_2.

CONTROL DE CALIDAD

Todos los números de lote del sistema RapID NH se han estudiado usando los siguientes microorganismos de control de calidad, y los resultados son aceptables. El estudio de los microorganismos de control se debe realizar de acuerdo con los procedimientos de control de calidad establecidos en el laboratorio.Si se observan resultados anómalos en el control de calidad, no se informará de los resultados de ese paciente. En la Tabla 3 se exponen los resultados de una batería seleccionada de microorganismos de prueba.

Notas:

- El control de calidad del Reactivo RapID se realiza obteniendo las reacciones esperadas en las pruebas que necesitan la adición de los reactivos (pocillos 8-10).
- Los microorganismos que se han transferido repetidamente a un medio de agar durante periodos prolongados pueden dar resultados anómalos.
- Las cepas de control de calidad se almacenarán congeladas o liofilizadas. Antes de su uso, las cepas de control de calidad se deben pasar dos o tres veces desde su almacenamiento al medio de agar recomendado para usar con el sistema RapID NH.
- Las formulaciones, los aditivos y los ingredientes del medio de cultivo varían en el producto de cada fabricante y pueden variar en cada lote. En consecuencia, el medio de cultivo puede influir en la actividad enzimática constitutiva de las cepas de control de calidad designadas. Si los resultados de la cepa de control de calidad difieren de los patrones indicados, un subcultivo en un medio de otro lote o de otro fabricante resolverá a menudo las discrepancias del control de calidad.

Tabla 3. Diagrama de control de calidad para los paneles RapID NH

Microorganismo	PRO	GGT	ONPG	GLU	SUC	EST	RES	PO_4	ORN	URE	NO_3	IND	NO_2
Haemophilus influenzae **Biotipo I[a] ATCC® 9006**	–	–	–	+	–	–	–	+	+	+	+	+	–
Aggregatibacter aphrophilus ATCC® 7901	–	–	+	+	+	–	V	+	–	–	V	–	–
Aggregatibacter aphrophilus ATCC® 49146	V	+	+	+	+	–	V	+	–	–	+	–	V
Oligella urethralis **ATCC® 17960**	V	+	–	–	–	–	+	–	–	–	–	–	V
Moraxella catarrhalis**[a] ATCC® 8176**	+	–	–	–	–	+	V	–	V	–	V	–	+

+, positivo; –, negativo; V, variable

[a]Las **principales cepas indicadoras** presentan un rendimiento aceptable del sustrato más lábil en el sistema y reactividad en un número significativo de pocillos, de acuerdo con las recomendaciones para el control de calidad simplificado del Instituto de Normas para Laboratorios Clínicos.[26]

LIMITACIONES

1. El uso del sistema RapID NH y la interpretación de resultados requiere los conocimientos de un técnico de laboratorio competente, con formación en los métodos de microbiología general y que haga un uso racional de la formación, la experiencia, la información de la muestra y otros procedimientos pertinentes antes de informar de la identificación obtenida con el sistema RapID NH.
2. Cuando se use el sistema RapID NH se tendrá en cuenta el origen de la muestra, la reacción de oxidasa, las características de la tinción de Gram y el crecimiento en los medios de agar selectivo.
3. El sistema RapID NH debe usarse con cultivos puros de los microorganismos de prueba. El uso de poblaciones microbianas mixtas o el estudio directo del material clínico sin un cultivo previo dará resultados anómalos.
4. El sistema RapID NH está diseñado para usarse con los géneros que se enumeran en el diagrama diferencial RapID NH. El uso de microorganismos que no se mencionen específicamente puede provocar errores de identificación.
5. Los valores esperados en las pruebas del sistema RapID NH pueden diferir de los resultados de pruebas convencionales o de la información obtenida con anterioridad.
6. La exactitud del sistema RapID NH se basa en el uso estadístico de varias pruebas diseñadas específicamente y de una base de datos exclusiva registrada. El uso de una sola prueba con el sistema RapID NH para establecer la identificación de un aislamiento, está sujeto al error inherente a esa sola prueba.
7. Se han informado cepas PRO-negativas de *N. gonorrhoeae*.[18] Cuando se utiliza como referencia ERIC, un microcódigo derivado de una cepa PRO-negativa de *N. gonorrhoeae* producirá posiblemente una situación de superposición con *Kingella kingae*. No obstante, dicha superposición tiene una probabilidad significativa de *N. gonorrhoeae* como primera opción. Es necesario realizar más análisis para resolver la situación de superposición. Se puede utilizar la prueba de superoxol (peróxido de hidrógeno al 30%) para diferenciar entre *N. gonorrhoeae* (positivo) y *K. kingae* (negativo).[2,27]
8. Se han informado cepas GGT-negativas de *Neisseria meningitidis*.[28] Si existen sospechas de que este sea el caso, se han de realizar pruebas adicionales, tales como la acidificación de los carbohidratos (es decir, maltosa y glucosa), con el fin de identificar de manera definitiva los aislamientos PRO-positivos y GGT-negativos que, de lo contrario, serían característicos de *N. meningitidis* o *N. gonorrhoeae.*

CARACTERÍSTICAS DE FUNCIONAMIENTO

Las características de funcionamiento del sistema RapID NH se han establecido mediante el estudio analítico de cultivos de referencia y cultivos madre, y de aislamientos clínicos nuevos.[3,9]

Diagrama diferencial RapID NH

Organism	PRO	GGT	ONPG	GLU	SUC	EST	RES	PO_4	ORN	URE	NO_3	IND
Aggregatibacter actinomycetemcomitans [a]	46	98	1	95	16	59	39	58	1	0	79	0
Aggregatibacter aphrophilus [b]	2	92	96	98	98	12	90	99	0	0	90	0
Cardiobacterium hominis	12	96	0	79	63	0	93	0	0	0	0	99
Eikenella corrodens	86	0	9	0	0	0	23	0	97	0	93	0
Gardnerella vaginalis	99	0	77	91	44	1	12	5	0	0	0	0
Haemophilus ducreyi	0	0	0	8	0	0	0	79	0	0	96	0
Haemophilus haemolyticus	0	0	0	97	0	0	13	99	0	99	96	90
Haemophilus influenza [c]	4	0	0	98	0	2	9	99	50	50	96	50
Haemophilus parahaemolyticus	0	0	88	98	95	0	12	99	34	99	99	0
Haemophilus parainfluenzae	2	0	93	98	96	0	12	99	50	50	96	50
Haemophilus segnis	0	0	90	52	33	0	24	98	0	0	96	0
Kingella denitrificans	93	0	0	91	0	5	91	0	0	0	94	0
Kingella kingae	19	0	0	76	0	0	57	98	0	0	0	0
Moraxella atlantae	0	22	0	0	0	8	90	96	0	0	0	0
Moraxella catarrhalis	39	0	0	0	0	99	92	0	8	0	63	0
Moraxells lacunata	0	0	0	0	0	0	96	5	0	0	88	0
Moraxella nonliquefaciens	8	0	0	0	0	0	94	0	0	0	96	0
Moraxella osloensis	4	39	0	0	0	0	93	27	0	0	9	0
Neisseria cinerea	99	0	0	0	0	0	68	0	0	0	0	0
Neisseria elongata subsp. *nitroreducens* [d]	79	0	0	0	0	0	91	0	0	0	89	0
Neisseria flavescens	92	9	0	0	0	0	99	96	0	0	0	0
Neisseria gonorrhoeae	98[h]	0	0	87	0	1	4	0	0	0	0	0
Neisseria lactamica	96	0	99	97	2	5	0	18	0	0	0	0
Neisseria meningitidis	93	98[i]	0	96	0	0	62	8	2	0	0	0
Neisseria mucosa	96	2	0	95	92	0	92	1	0	0	95	0
Neisseria sicca/subflava	97	14	0	95	96	2	96	9	0	0	0	0
Neisseria weaveri/elongate [e]	99	0	0	0	0	0	96	0	0	0	0	0
Oligella ureolytica	12	99	0	0	0	0	98	9	0	99	0	0
Oligella urethralis	39	99	0	0	0	0	99	0	0	0	0	0
Pasteurella multocida	0	0	0	97	96	0	46	99	94	0	98	99
Psychrobacter phenylpyruvicus [f]	0	7	0	0	0	18	95	5	31	95	62	0
Suttonella indologenes [g]	7	92	0	96	84	31	98	90	0	0	0	99

[a]Denominado anteriormente *Haemophilus actinomycetemcomitans*.
[b]Denominado anteriormente *Haemophilus aphrophilus.*
[c]Incluye el biogrupo *aegyptius.*
[d]Denominado anteriormente CDC group M-6.
[e]Denominado anteriormente CDC group M-5 (*Neisseria weaveri*).
[f]Denominado anteriormente *Moraxella phenylpyruvica.*
[g]Denominado anteriormente *Kingella indologenes.*
[h]Se han informado cepas PRO-negativas de *Neisseria gonorrhoeae*.[18]
[i]Se han informado cepas GGT-negativas de *Neisseria meningitidis*.[28]

SPANISH

Diagrama de biotipos de Haemophilus[a]

Microorganismo	IND	URE	ORN
Haemophilus influenzae			
Biotipo I	+	+	+
Biotipo II	+	+	–
Biotipo III y biogrupo aegyptius[b]	–	+	–
Biotipo IV	–	+	+
Biotipo V	+	–	+
Biotipo VI	–	–	+
Biotipo VII	+	–	–
Biotipo VIII	–	–	–
Haemophilus parainfluenzae			
Biotipo I	–	–	+
Biotipo II	–	+	+
Biotipo III	–	+	–
Biotipo IV	+	+	+
(Biotipo V)[c]	–	–	–
Biotipo VI	+	–	+
Biotipo VII	+	+	–
Biotipo VIII	+	–	–

[a]Adaptado de *Manual of Clinical Microbiology*. 2011. 10th ed.[15]

[b]El análisis de los perfiles proteicos de la membrana exterior puede usarse para diferenciar el biotipo III de *H. influenzae* y el biogrupo aegyptius.

[c]Actualmente, no está claro si estas cepas son de *H. parainfluenzae, H. segnis o* o *H. paraphrophilus.*

BIBLIOGRAFÍA

1. Krieg, N.R. and J.G. Holt. 1984. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Vol.1. Williams & Wilkins, Baltimore, MD.
2. Murray, P.R., E.J. Baron, J.H. Jorgensen, M.L. Landry, and M.A. Pfaller. 2007. Manual of Clinical Microbiology. 9th ed. ASM Press, Washington, D.C.
3. Eriquez, L.A. and N.E. Hodinka. 1983. J. Clin. Microbiol. 18:1032-1039.
4. Doern, G.V. and S. A. Morse. 1980. J. Clin. Microbiol. 11:193-195.
5. Boyce, J.M. and E.B. Mitchell, Jr. 1985. J. Clin. Microbiol. 22:731-734.
6. Hoke, C. and N.A. Vedros. 1982. Int. J. Syst. Bacteriol. 32:51-56.
7. Knapp, J.S., P.A. Totten, M.H. Mulks, and B.H. Minshew. 1984. J. Clin. Microbiol. 19:63-67.
8. Doern, G.V. and K.C. Chapin. 1987. Diagn. Microbiol. Infect. Dis. 7:269-272.
9. Dolter, J., L. Bryant, and J.M. Janda. 1990. Diagn. Microbiol. Infect. Dis. 13:265-276.
10. Peterson, E.H. and E.J. Hsu. 1978. J. Food Sci. 43:1853-1856.
11. Guilbault, G.G. 1970. Enzymatic Methods of Analysis. p. 43-51. Pergamon Press, New York, NY.
12. Balows, A., W.J. Hausler, K.L. Herrmann, H.D. Isenberg, and H.J. Shadomy. 1991. Manual of Clinical Microbiology. 5th ed. ASM, Washington, D.C.
13. Barnes, E.H. and J.F. Morris. 1957. J. Bacteriol. 73:100-104.
14. Evangelista, A.T. and H.R. Beilstein. 1993. Cumitech 4A, Laboratory Diagnosis of Gonorrhea. Coordinating ed., C. Abramson. ASM, Washington, D.C.
15. Versalovic, J., K.C. Carroll, G. Funke, J.H. Jorgensen, M.L. Landry, and D.W. Warnock. 2011. Manual of Clinical Microbiology. 10th ed. ASM Press, Washington, D.C.
16. Forbes, B.A., D.F. Sahm, and A.S. Weissfeld. 2007. Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology. 12th ed. Mosby Elsevier, St. Louis, MO.
17. Isenberg, H.D. 2004. Clinical Microbiology Procedures Handbook. 2nd ed. ASM Press, Washington, D.C.
18. Blackmore, T., G. Hererra, S. Shi, P. Bridgewater, L. Wheeler, and J. Byrne. 2005. J. Clin. Microbiol. 43:4189-4190.
19. Blazevic, D.J. and G.M. Ederer. 1975. Principles of Biochemical Tests in Diagnostic Microbiology. John Wiley & Sons, New York, NY.
20. Bodansky, O. and A.L. Latner. 1975. Advances in Clinical Chemistry. Vol. 17, p. 53-61. Academic Press, New York, NY.
21. Dogan, B., S. Asikainen, and H. Jousimies-Somer. 1999. J. Clin. Microbiol. 37:742-747.
22. Nagatsu, T., M. Hino, H. Fuyamada, T. Hayakawa, S. Sakakibara, Y. Nakagawa, and T. Takemoto. 1976. Anal. Biochem. 74:466-476.
23. Norris, J.R. and D.W. Ribbons. 1976. Methods in Microbiology. Vol. 9, p. 1-14. Academic Press, New York, NY.
24. Riou, J.Y. 1977. Ann. Bull. Clin. 35:73-87.
25. Westley, J.R., P.J. Anderson, V.A. Close, B. Halpern, and E.M. Lederberg. 1967. Appl. Microbiol. 15-822-825.
26. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). 2008. Quality Control for Commercial Microbial Identification Systems; Approved Guideline. M50-A. CLSI, Wayne, PA.
27. Saginur, R., B. Clecner, J. Portnoy, and J. Mendelson. 1982. J. Clin. Microbiol. 15:475-477.
28. Takahashi, H., H. Tanaka, H. Inouyr, T. Kuroki, Y. Watanabe, S. Yamai, and H. Watanabe. 2002. J. Clin. Microbiol. 40:3035-3037.
29. Koneman, E.W., S.D. Allen, W.M. Janda, P.C. Schreckenberger, and W.C. Winn. 1997. Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology. 5th ed. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, PA.

ENVASADO

REF R8311001, Sistema RapID NH.....20 pruebas/juego

Símbolos

REF	Número de catálogo
IVD	Dispositivo médico para diagnóstico *in vitro*
LAB	Para el uso del laboratorio
	Consulte las instrucciones de uso
	Límite de temperatura (temperatura de almacenamiento)
LOT	Código de lote (número de lote)
	Fecha de caducidad
EC REP	Representante autorizado en Europa
	Fabricante

RapID™ es una marca de Thermo Fisher Scientific y sus filiales.
ERIC™ es una marca de Thermo Fisher Scientific y sus filiales.
ATCC® es una marca registrada de American Type Culture Collection.

12076 Santa Fe Drive
Lenexa, KS 66215, USA
www.remel.com
(800) 255-6730
International: (913) 888-0939

EC REP

Remel Europe Ltd.
Clipper Boulevard West, Crossways
Dartford, Kent, DA2 6PT
UK

CE

Para obtener asistencia técnica póngase en contacto con su distribuidor local.

IFU 8311001, Revisado el 2013-09-04 Impresso en los EEUU